

БИОХИМИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ



МЕДИЦИНА 1979

現代の遺伝学 6

人の遺伝生化学

幸矩進高夫也
敏和 正民雅
瀬田 田馬川口
柳津柴有山山

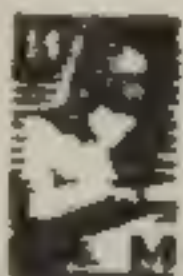
朝倉書店

БИОХИМИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

ЯНАГАСЭ ТОСИЮКИ
ЦУДА КАДЗУНОРИ
СИБАТА СУСУМУ
АРИМА МАСАТАКА
ЯМАГАВА ТАМИО
ЯМАГУТИ МАСАЯ

Перевод с японского С. И. МЫШКИНОЙ

Под редакцией проф. Э. Г. ЛАРСКОГО



МОСКВА·МЕДИЦИНА·1979

52.5

УДК 577.21

Биохимия наследственности. ЯНАГАСЭ ТОСИЮКИ
и др.: Пер. с японск. — М., Медицина, 1979 —
312 стр., ил.

В книге на высоком научном уровне дается общий обзор развития биохимии наследственности. Подводятся итоги знаний о полиморфных признаках нормальных химических мутантов у человека, а также обобщаются данные о наследственных аномалиях состава гемоглобина, изменениях ферментов, участвующих в обмене углеводов, аминокислот, липидов, нуклеиновых кислот, представляющих важнейшую информацию применительно к человеку. В работе рассматриваются также общие аспекты применения данных общей генетики к проблемам медицины.

Книга представляет интерес для биохимиков и генетиков.

В книге 81 рис., 29 табл., библиография — 234 названия.

Б $\frac{50300-396}{039(01)-79}$ 263—79 2001040000

© 1974 Asakura Shoten

© Перевод на русский язык. Издательство «Медицина», 1979.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к серии «Современная генетика	7
Предисловие к тому «Биохимия наследственности»	9
Глава I. Биохимические мутации у человека (обзор научных исследований и их этапов)	11
1.1. Биохимическая генетика. Ход ее развития	11
а. Развитие физиологической генетики	11
б. Исследования Garrod	12
в. Теория «один ген — один фермент»	13
г. Нуклеиновые кислоты как материальная основа наследственности	14
д. Разъяснение механизма самовоспроизведения и проявления признаков	16
е. Установление кода для записи генетической информации	18
ж. Механизм регуляции функции генов	19
1.2. Биохимическая индивидуальность человека	20
а. Нарушения в метаболизме, связанные с проявлением единичного гена	22
б. Чувствительность к лекарственным средствам	23
в. Индивидуальные различия с точки зрения показателей компонентов человеческого организма в сочетании с порогом чувствительности	27
г. Сравнительно редкие биохимические мутации, выявленные при помощи электрофореза с движущейся границей	28
д. Полиморфные белки	29
1.3. Препятствия на пути метаболизма, связанные с единичным геном	30
а. Неполюценное образование веществ	31
б. Накопление субстрата	32
в. Накопление веществ-предшественников	32
г. Увеличение продуктов метаболизма за счет обходных путей	33
1.4. Изменения активности фермента	34
а. Атипичная форма холинэстеразы	35
б. Оротовая ацидурия	37
1.5. Молекулярные болезни	38
а. Обзор молекулярных болезней	39
б. Мутации в структуре гемоглобина	41
в. Применение к человеку теории генетических информационных кодов	41
г. Структуры и функции	46

д. Нарушение баланса в синтезе гемоглобинов	52
Заключение	55
Список литературы	56
Глава II. Полиморфные отличительные признаки (главным образом о гаптоглобине)	58
2.1. Полиморфные признаки	59
2.2. Частота полиморфизма	60
2.3. Виды и функции полиморфных биохимических признаков	64
2.4. Гаптоглобин	67
а. Фенотипы и генотипы гаптоглобина	67
б. Подтипы гаптоглобина	70
в. Химическая структура гаптоглобина	70
г. Молекулярная структура каждого из типов гаптоглобина	76
д. Физиологические функции гаптоглобина	83
2.5. Способы измерения концентраций гаптоглобина в крови	87
Географическое распределение генов гаптоглобина	92
Заключение	96
Список литературы	98
Глава III. Аномалии гемоглобина	100
3.1. Отсутствие единообразия в составе гемоглобина у человека	100
3.2. Генетика гемоглобина	107
3.3. Субъединица молекулы гемоглобина	115
а. Эксперимент по созданию гибридов	116
б. Эксперимент по гибридизации Hb M Iwate и гемоглобина собаки (Hb Can)	120
в. Электрофорез и хроматография при диссоциации Hb A мочевиной	120
г. Хроматография с использованием диссоциации PCMB и электрофорез в крахмальном геле	122
д. Разделение (α) и (β) способом диссоциации глобина с последующим осаждением трихлоруксусной кислотой или при помощи диализа	123
3.4. Аномальные гемоглобины и гемохроматоз	130
3.5. Точечные мутации	137
3.6. Отсутствие ошибок и слияние	141
3.7. Мутация на конечной точке цепи структурного гена	143
3.8. Талассемия	145
а. α -Талассемия	148
б. β -Талассемия	153
в. γ -Талассемия	156
г. δ -Талассемия	156
д. $\delta\beta$ -Талассемия	157
3.9. Аномалии гена-переключателя	158
3.10. Взаимодействие генов, кодирующих синтез гемоглобина	161
а. Взаимодействие двух видов аномальных структурных генов, занимающих одинаковые локусы (образующих аллельные гены) — заболевания Hb S/Hb C и Hb S/Hb D	162
б. Взаимодействие патологического структурного гена и гена талассемии	163
	307

в. Взаимодействие гена талассемии и гена наследственной персистенции фетального гемоглобина	166
г. Ген Lерогe (ген слияния) в сочетании с геном β -талассемии	167
Список литературы	168
Глава IV. Нарушения метаболизма углеводов и аминокислот	176
4.1. Заболевания, вызванные нарушениями углеводного обмена	176
а. Галактоземия	177
б. Фруктоземия	179
в. Недостаточность фруктозо-1,6-дифосфатазы	180
г. Лактоземия	180
д. Интолерантность к сахарозе	181
е. Врожденная интолерантность к лактозе, связанная с лактозурией	181
ж. Фруктозурия. Доброкачественная фруктозурия	181
з. Пентозурия	181
и. Сахарозурия	182
к. Почечная глюкозурия	182
л. Гликогенозы (болезни накопления гликогена)	183
м. Аномалии в обмене пировиноградной кислоты	186
н. Аномалии сахарного метаболизма, вызывающие гемолитическую анемию	188
о. Мукополисахаридоз. Гаргоилизм	189
п. Фукозидоз	192
р. Маннозидоз	192
4.2. Нарушения метаболизма аминокислот	193
а. Фенилкетонурия	194
б. Гиперфенилаланинемия. Атипичная форма фенилкетонурии	197
в. Альбинизм	198
г. Тирозиноз	199
д. Алкаптонурия	199
е. Заболевания, связанные с нарушением орнитинового цикла	200
ж. Гиперлизинемия	203
з. Нарушения метаболизма аминокислот, содержащих серу	203
и. Нарушения метаболизма иминокислот	208
к. Нарушения метаболизма соединений имидазола	209
л. Нарушения метаболизма аминокислот с боковой цепью	212
м. Прочие виды заболеваний	213
4.3. Аномалии транспорта в почечных канальцах	215
Список литературы	216
Глава V. Врожденные нарушения обмена липидов	219
5.1. Сфинголипидоз	219
а. Глюкоцереброзидоз (болезнь Гоше)	223
б. Галактоцереброзидоз. Сульфацидоз	227
в. Ганглиозидоз	228
г. Церамидолиготексозидоз (болезнь Фабри)	232
д. Церамидлактозидоз	233

е. Сфингомиелин
5.2. Нарушение о
а. Болезнь вак
atactica poly
б. Изовалериано
5.3. Нарушение о
а. Болезнь Вол
5.4. Нарушение о
а. Заболевани
а-липопротеид
б. Не- β -липопрот
в. Заболевани
холестеринаци
г. Болезни, связа
теидов в крови
Список литературы
Глава VI. Сахарни
6.1. Определение са
бенности
а. Что представля
б. Эпидемиология
6.2. Сахарный диабе
а. Наследственный
б. Наследственные
в. Распределение
6.3. Генетика колич
а. Биохимические
б. Полимерия. Пол
в. Коэффициент н
г. Наследование
теория порога з
6.4. Ген сахарного д
Список литературы
Глава VII. Врожден
других кислот
7.1. Аномалии метабо
а. Синтез пуринов
б. Взаимное превращ
в. Восстановительн
и синдром Lesch
г. Гиперурикемия
д. Наследственная
е. Ксантинурия
ж. Ацидемия как ре
з. Ацидурия, вызван
вой кислоты
7.2. Аномалии синтез
а. Врожденная эрит
б. Эритропоэтичес
а. Острая перек

е. Сфингомиелиноз (болезнь Ниманна—Пика)	233
5.2. Нарушение обмена жирных кислот	233
а. Болезнь накопления фитановой кислоты (heredopathia atactica polyneuritiformis, болезнь Рефсума)	233
б. Изовалериановая ацидурия	234
5.3. Нарушение обмена стеридов	235
а. Болезнь Волмана (Wolman)	235
5.4. Нарушение обмена липопротеидов	236
а. Заболевания, связанные с низким содержанием в крови α -липопротеидов (болезнь Танжера)	237
б. Не- β -липопротеинемия (акантоцитоз)	239
в. Заболевания, связанные с недостаточностью лецитин-холестеринацилтрансферазы	239
г. Болезни, связанные с высоким содержанием липопротеидов в крови (гиперлипемии)	240

Список литературы	242
-------------------	-----

Глава VI. Сахарный диабет	243
---------------------------	-----

6.1. Определение сахарного диабета и его характерные особенности	243
а. Что представляет собой сахарный диабет?	243
б. Эпидемиология сахарного диабета и классификация	245
6.2. Сахарный диабет и наследственность	250
а. Наследственный характер сахарного диабета	250
б. Наследственные формы сахарного диабета	251
в. Распределение концентраций сахара в крови	253
6.3. Генетика количественных отличительных признаков	254
а. Биохимические признаки непрерывной изменчивости	254
б. Полимерия. Полиген	256
в. Коэффициент наследуемости	258
г. Наследование предрасположения к заболеваниям — теория порога заболевания	260
6.4. Ген сахарного диабета и эволюция человека	262

Список литературы	262
-------------------	-----

Глава VII. Врожденные аномалии обмена нуклеиновых и других кислот	264
---	-----

7.1. Аномалии метаболизма нуклеиновых кислот	264
а. Синтез пурипнуклеотидов	265
б. Взаимное превращение и катаболизм пурипнуклеотидов	266
в. Восстановительный путь обмена пуриновых оснований и синдром Lesch — Nyhan	268
г. Гиперурикемия и подагра	272
д. Наследственность первичной гиперурикемии	279
е. Ксантинурия	284
ж. Ацидемия как результат повышенного содержания фолиевой кислоты	285
з. Ацидурия, вызванная повышенным содержанием оротовой кислоты	287
7.2. Аномалии синтеза порфиринов	288
а. Врожденная эритропоэтическая порфирия	291
б. Эритропоэтическая протопорфирия	291
в. Острая перемежающаяся порфирия	292
	309

г. Нетипичные формы порфирии (ремиттирующая порфирия, протопорфирия, наследственная поздняя кожная порфирия, наследственная СРТ, смешанная порфирия)	293
д. Наследственная копропорфирия	293
7.3. Аномалии билирубинового обмена	294
а. Первичная гипербилирубинемия, связанная с шунтом обменных реакций гемоглобина	294
б. Синдром Криглера — Найяра	295
в. Болезнь Жильбера	296
г. Синдром Дубина — Джонсона	297
д. Гипербилирубинемия Ротора (синдром Ротора)	297
7.4. Белковые аномалии в плазме крови	298
а. Анальбуминемия	298
б. Заболевание, связанное с дефицитом α_1 -антитрипсина	299
в. Заболевание, связанное с дефицитом церулоплазмينا (болезнь Вильсона)	299
г. Атрансферринемия (врожденная)	300
д. Врожденный синдром дефицита антител (агаммаглобулинемия)	300
е. Аномалии комплемента	301
Список литературы	305

БИО

Под редакц

Издатель:

Типограф:

АСА
Токио, Синд
Почтовый и
Телефон: То
Номер счета
Объединенн
естественны

© 1974
Перепеча

СОВРЕМЕННАЯ ГЕНЕТИКА

Серия в 6 томах

Под редакцией:

*Декана факультета генетики физиологических
функций Государственного научно-исследователь-
ского института генетики*

ООСИМА ТЁДЗО

*Профессора медицинского факультета Токийско-
го университета*

ИНОУЭ ЭЙДЗИ

*Профессора факультета домоводства Японского
женского университета*

ЮАСА АКИРА

*Профессора медицинского факультета Универси-
тета Кэйогидзюку*

БАТАНАБЭ ИТАРУ

Представляем авторов VI тома

*Профессор медицинского факультета
Университета Кюсю-дайгаку
ЯНАГАСЭ ТОСИЮКИ*

*Профессор Миядзакского медицинского
института ЦУДА КАДЗУНОРИ*

*Профессор медицинского факультета
Кавадзакского медицинского
института СИБАТА СУСУМУ*

*Профессор медицинского факультета
Тотторисского университета
АРИМА МАСАТАКА*

*Профессор медицинского факультета
Токийского университета ЯМАГАВА ТАМИО*

*Доцент медицинского факультета
Университета Кюсю-дайгаку
ЯМАГУТИ МАСАЯ*

К СЕРИИ «С

Развитие генетики.
поражительных успехов
логи, начиная с сам
пней популяций живы
казать на примере во
кчеством методологии.
высокого уровня на ба
В наши дни генетика
широкой областью раз
лениям жизни, и вскор
о жизни и условиях е
познаниями в генетике.
Нельзя пока еще и о
зона отраслей знания, с
стороны, заставляет в о
деленные рамки соврем
вычайно затрудняет дос
ставлений, которые соче
виде.

Данная серия, если ра
вия, представляет собой
компетентными исследов
форме, с приведением в
подтверждений по каждо
описаний соответствующ
от вируса и коварная чело
серия послужит материале
иных на современном
методики биологически
используемые современно
качеством генетической
Нельзя представить
материала

ПРЕДИСЛОВИЕ К СЕРИИ «СОВРЕМЕННАЯ ГЕНЕТИКА»

Развитие генетики, которая достигла за последние годы поразительных успехов и охватила многие проблемы биологии, начиная с самой сущности гена и кончая эволюцией популяций живых организмов, очевидно, может доказать на примере возможность свободного владения искусством методологии, а также реальность достижения высокого уровня на базе современных естественных наук. В наши дни генетика приобрела тесную взаимосвязь с широкой областью различных знаний, относящихся к явлениям жизни, и вскоре окажется невозможным говорить о жизни и условиях ее окружающей среды, не обладая познаниями в генетике.

Нельзя пока еще и отрицать, что такая широта диапазона отраслей знания, сопряженных с генетикой, с одной стороны, заставляет в одной части наук превышать определенные рамки современных знаний, а с другой — чрезвычайно затрудняет достижение всеохватывающих представлений, которые сочетались бы в сбалансированном виде.

Данная серия, если рассматривать ее с такой точки зрения, представляет собой труд, выполненный наиболее компетентными исследователями и в предельно доступной форме, с приведением в качестве обоснования фактических подтверждений по каждой отдельной специальности и с описанием соответствующих живых организмов, начиная от вируса и кончая человеком. Было задумано, что данная серия послужит материалом для получения важнейших, опорных и всеобъемлющих понятий о процессах развития генетики на современном этапе, с тем чтобы читатели, изучающие биологические науки, взаимосвязанные с современной генетикой, могли использовать это пособие в качестве справочника.

При составлении данной серии было предусмотрено самостоятельное изложение основных областей генетики в

каждом из соответствующих томов, дабы читатель, прочитав каждый отдельный том, получил все основные знания, которыми мы располагаем на настоящем этапе. Разумеется, нечего и говорить, что ознакомление со всеми томами серии, очевидно, даст возможность более всесторонне овладеть современной генетикой. Если читатели, используя этот труд в качестве материалов для чтения лекций в вузах и в научно-исследовательской работе по биофизике, биохимии, микробиологии, радиационной биологии, цитологии, эмбриологии, иммунологии, биологической статистике, экологии, по проблемам эволюции роста и развития и т. д., смогут на основе полученных знаний о генетике сделать шаг вперед на пути усовершенствования, то авторы и редакционная коллегия сочтут это за большую удачу.

Сентябрь 1973 г. Редакционная коллегия

Еще
коллек
аномал
биниз
щую
вания
«Ка
за и
каждо
в орг
опред
жении
тов в
больш
Пос
ла до
ных и
форм
сои и
венно
молек
вення
освеш
ность
предв
гии, с
орган
завла
ность
наук,
ного
котор
В д

ПРЕДИСЛОВИЕ К ТОМУ «БИОХИМИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ»

Еще в 1908 г. на лекции, состоявшейся в Королевском колледже врачей, А. Гаррод затронул вопрос о четырех аномалиях, наблюдаемых у людей, — алкаптонурии, альбинизме, цистинурии и пентозурии — и высказал следующую точку зрения о причинах, вызывающих эти заболевания:

«Каждый отдельный этап непрерывного процесса синтеза и расщепления каждой отдельной фракции белков и каждого в отдельности углевода и липида, происходящий в организме, представляет собой результат воздействия определенного фермента. Поэтому само по себе предположение о специфическом соответствии каждого из ферментов выполнению специальной задачи приобретает все больше обоснований...»

После того как известные эксперименты Тейтема и Бидла доказали необходимость специального питания мутантных штаммов нейроспоры и привели в конечном счете к формированию теории «один ген — один фермент», а Уотсон и Крик предложили модель ДНК, явления наследственности стали неразрывно связанными с понятиями молекулярной биологии, и в этой связи история возникновения и развития молекулярной биологии соответственно освещается в разных разделах данной серии. Дальновидность Гаррода как исследователя, на 30 с лишним лет предвосхитившего начало развития молекулярной биологии, его оценка человека — сложнейшего из видов живых организмов — не только свидетельствуют о том, что мы завладеваем средствами наступления на истинную сущность жизни, что резко опережает развитие биологических наук, но также служат достаточной гарантией для огромного спеющего урожая знаний о химических мутациях, которые мы можем наблюдать в человеческом организме.

В данном томе дается общий обзор хода развития биохимической генетики вплоть до наших дней. Кроме того,

подводятся итоги знаний о полиморфных признаках «нормальных» химических мутаций у человека, важнейшими из которых являются группы гаптоглобина плазмы крови; обобщаются данные о наследственных аномалиях в составе гемоглобина, углеводов, аминокислот, липидов, нуклеиновых кислот, представляющих важнейшую информацию применительно к человеку. Далее, принимая во внимание новые тенденции в биохимической генетике, связанные с предрасположением к определенным заболеваниям, в книге в качестве наиболее распространенного вида патологических нарушений был избран сахарный диабет. Причем общие аспекты генетики освещаются в связи с проблемами медицины.

Если этот труд сумеет повысить интерес читателей к проблемам жизни в целом, то это можно будет причислить к заслугам профессора Янагасэ Тосиюки, поэтому хочется здесь заранее выразить ему благодарность.

Декабрь 1973 г. ИНОУЭ ЭЙДЗИ

БИОХИМИЧЕСКОЕ

1.1. БИОХИМИЧЕСКОЕ

Прошло всего 100

del открыл и сформ

в течение этого пер

наследственности п

ществующим измене

В самом начале М

щиванию, пришел к

венности является к

утверждение явно н

в процессе перехода

(1926), а также в

ческих исследовани

тепов в хромосоме

После этого гипотез

теорию.

а. Развитие

Почти одновременно

процесс, начиная от

до выявления его с

нескольких промежу

как таковое как пр

и при завершении

возникновения — возникла

реакция, регуля

1938 г. В своих и

Goldschmidt

некоторых генотипо

иной среды, причём с

теории процесса ка

мат для научной

биохимичес

Глава I

БИОХИМИЧЕСКИЕ МУТАЦИИ У ЧЕЛОВЕКА

(Обзор научных исследований и их этапов)

1.1. БИОХИМИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА. ХОД ЕЕ РАЗВИТИЯ

Прошло всего 100 с небольшим лет с тех пор, как Mendel открыл и сформулировал свои законы, тем не менее в течение этого периода наши представления об единице наследственности постепенно подвергались довольно существенным изменениям.

В самом начале Mendel, осуществив ряд опытов по скрещиванию, пришел к заключению, что единица наследственности является корпускулярной. Однако в то время это утверждение явно носило гипотетический характер. Затем в процессе перехода от теории Менделя к теории Моргана (1926), а также в результате многочисленных цитологических исследований был установлен факт расположения генов в хромосоме клеточного ядра в линейном порядке. После этого гипотеза превратилась в твердо обоснованную теорию.

а. Развитие физиологической генетики

Почти одновременно с вышеизложенным, — хотя весь процесс, начиная от первичного проявления гена и вплоть до выявления его отличительных признаков, состоит из нескольких промежуточных этапов, и на проявление гена как таковое как при зарождении живого организма, так и при завершении его развития влияют биохимические реакции, — возникла мысль о наличии каталитического воздействия, регулирующего течение этих биохимических реакций. В своих исследованиях, проведенных вплоть до 1938 г., Goldschmidt выявляет отличительные признаки некоторых генотипов в специальных условиях окружающей среды, причем он обосновал важность этого промежуточного процесса как одного из разделов генетики и предмета для научных изысканий. Goldschmidt назвал его физиологической генетикой.

Вначале физиологическая генетика занималась проблемами изучения на научном уровне различных аспектов проявления генов в различных специфических условиях окружающей среды, принимая за основу своих исследований законы физики. Однако вскоре — и это был неизбежный процесс — по мере разработки методической стороны вопроса физиологическая генетика оказалась связанной с биохимическими методами и способами оценки результатов наблюдений. Так, например, механизм генетической регуляции клеточной дифференцировки оказалось возможным оценивать на уровне клеточного обмена веществ, поэтому развитие данного раздела генетики могло происходить в различных аспектах этого направления. По существу в данной области были необходимы специальные познания как в сфере органической химии, так и в физической химии и других точных науках. С годами постепенно определилось направление указанного раздела генетики: он выделился из физиологической генетики и сформировался в самостоятельный, названный биохимической генетикой.

Тем не менее фактическое рождение биохимической генетики восходит к периоду концепции Goldschmidt, который насчитывает 30 с лишним лет.

6. Исследования Garrod

Впервые описал проявление наследственности и обмен веществ английский медик Garrod. В 1902 г., вскоре после того как были открыты законы Менделя, Garrod в своей статье «Частота заболеваний алкаптонурией. Исследование характерных особенностей химических соединений у отдельных индивидуумов» высказал мысль о наличии биохимических мутантов и у человека, глубоко проникнув тем самым в суть биологического значения данного явления. В результате изучения цистинурии, общего альбинизма, пентозурии и других заболеваний Garrod в 1908 г. представил общие соображения о врожденных пороках метаболизма. Ученый указал на ряд моментов, являющихся общими фундаментальными особенностями этих дефектов обмена веществ, а именно: при названных пороках метаболизма некоторые вещества минуют определенные стадии нормального обменного процесса. Garrod высказал предположение, что это, очевидно, происходит из-за врожденных дефектов тех ферментов, которые участвуют в данных

этапах метаболизма
гомогенизации
сращения тирозина
окислению и
1958 г., подтвер
нурней наблюд
катализирующе
тем самым была
соображений.

Концепция Garrod
новизны. поэти
ской генетики. Н
ка достигла заме
исследований ста
насекомые. При э
жения Garrod и д
ценности. Некото
основателем биох
за ней молекуляр

в. Теор

Со времени пер
лишним лет, пока
к изучению проце
ков в биохимичес
исследований насе
поскольку уже бы
явления отличите
ний, связанная с п
чительный скачок
также бактерий и
этом отношении о
спора (Neurospora)
Обычная нейрос
простой питательн
нических солей, уг
среда). Однако ес
стадии размножен
сложных компонен
цессе своего жизн
постью синтеза ком
ее клетки. Кроме
функциональна

этапах метаболизма. Так, например, при алкаптонурии гомогентизиновая кислота, образующаяся в процессе превращения тирозина, по мнению ученого, не подвергается окислению и накапливается в организме. Позднее, в 1958 г., подтвердилось, что в печени заболевших алкаптонурией наблюдается недостаточная активность фермента, катализирующего процесс гомогентизиновой кислоты, и тем самым была доказана правильность описанных выше соображений.

Концепция Garrod отличалась высшей степенью дальновидности, поэтому он считается пионером биохимической генетики. Начиная с 1935 г., биохимическая генетика достигла замечательных успехов, причем объектами ее исследований стали растения, плесени, микроорганизмы и насекомые. При этом следует указать, что основные положения Garrod и до наших дней все еще не утратили своей ценности. Некоторые из генетиков даже считают Garrod основателем биохимической генетики и развившейся вслед за ней молекулярной генетики.

в. Теория «один ген — один фермент»

Со времени первого выступления Garrod прошло 20 с лишним лет, пока в 1930 г. исследователи не приступили к изучению процесса проявления отличительных признаков в биохимическом разрезе, избрав объектом для своих исследований насекомых и тутового шелкопряда. Однако поскольку уже было положено начало, сам процесс проявления отличительных признаков, а также сфера познаний, связанная с планами этих исследований, сделали значительный скачок вперед; объектами исследований стали также бактерии и микроорганизмы. Наиболее полезным в этом отношении оказался один из видов бактерий — нейроспора (*Neurospora crassa*).

Обычная нейроспора растет и размножается в довольно простой питательной среде, скомбинированной из неорганических солей, углеводов, биотина (основная питательная среда). Однако если исследовать клетку этой плесени в стадии размножения, то окажется, что она состоит из сложных компонентов. Иными словами, нейроспора в процессе своего жизненного цикла обладает мощной способностью синтеза компонентов, необходимых для построения ее клетки. Кроме того, у этой плесени почти отсутствует функциональная дифференцировка соматических клеток,

поэтому если поместить ее в определенные условия, то обмен веществ клетки будет неизменным, что представляет большое удобство для экспериментов.

Облучая эту плесень ультрафиолетовыми лучами, подвергая ее специальной химической обработке, можно вызвать мутации. В результате искусственно созданный мутант прекращает свое развитие в основной питательной среде и в состоянии вновь расти и размножаться лишь в условиях дополнительного внесения в питательную среду соответствующих питательных веществ. Подобный мутант называется мутантом с измененными пищевыми потребностями или, иначе говоря, ауксотрофным мутантом.

Beadle и Tatum (1941), изучив препятствия на уровне различных этапов метаболизма у мутантных штаммов нейроспоры, а также предполагаемую структуру генетического контроля над этими помехами, выдвинули рабочую гипотезу «один ген — один фермент».

Утрата способности осуществлять данную метаболическую реакцию, обусловленная мутацией, носит название генетического блока. Однако позднее эта мысль была высказана Tatum (1959) в виде следующих кратких выводов.

1. Любой биохимический процесс, происходящий в живом организме, находится под генетическим контролем.

2. Все эти биохимические процессы делятся на этапы, соответствующие каждой отдельной реакции.

3. Каждая реакция находится под контролем одного отдельного, соответствующим образом направленного гена.

4. В результате мутации гена способность осуществлять одну первичную химическую реакцию внутри клетки изменяется.

Аналогичные факты были установлены в экспериментах на дрозофилах и тутовых шелкопрядах, причем в этом случае появилась возможность провести на молекулярном уровне анализ наибольшего прямого соответствия между генами и отличительными признаками. В дальнейшем эти факты послужили основой для построения руководящих принципов биохимической генетики, открывших путь к развитию молекулярной генетики.

г. Нуклеиновые кислоты как матерьяльная основа наследственности

В 1968 г., вскоре после установления законов Менделя, швейцарским химиком Miescher были открыты нуклеиновые кислоты. Нельзя не отметить, что с точки зрения даль-

нейшего прогресса биологических наук это оказалось удивительно гармоничным. Естественно, что в те времена никому не могла прийти в голову мысль о существовании важнейшей взаимосвязи между единицей наследственности и нуклеиновыми кислотами, и впоследствии на то, чтобы увязать эти два понятия, потребовалось целых 76 лет.

Тем временем исследователи непрестанно продолжали доискиваться до самой сущности гена. Однако они полагали, что такая фундаментальная единица, управляющая столь сложным явлением высшего порядка, каким является наследственность, должна представлять собой что-нибудь подобное белкам, имеющим сложную структуру. В результате этого исследователи не сумели найти выхода из затруднений. Фактически, если подвергнуть нуклеины — вещества, в которых содержатся нуклеиновые кислоты, химическому анализу, то обнаружатся белки и вещества небелкового происхождения. Ориентируясь на белки как на генетическую субстанцию, исследователи не принимали в расчет того, что нуклеины в сущности играют исключительную роль наследственной субстанции и что именно эта их роль чрезвычайно важна.

Эти ложные предпосылки были целиком опровергнуты, когда в 1944 г. Avery и другие ученые стали исследовать передачу наследственных признаков на примере *Diplococcus pneumoniae* R-типа и S-типа, осуществляемую при помощи дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Эти исследования впервые показали, что сущность гена заключена в ДНК.

Важную роль в подкреплении данного факта сыграли исследования вирусов. Hershey и Chase в 1952 г., используя бактериофаг T₂, обнаружили, что ДНК необходима для размножения фага, а Fraenkel-Conrat и Singer в 1957 г. на примере вируса мозаики табака выяснили, что рибонуклеиновая кислота (РНК) играет роль наследственного фактора. С другой стороны, еще до того, как были получены такие выводы, ученые интенсивно осуществляли химический анализ каждой из нуклеиновых кислот в отдельности и в итоге поняли, что эти соединения, которые могут быть получены из обычных органических веществ, имеют сравнительно простую структуру. Вместе с тем, если предположить, что нуклеиновые кислоты обуславливают свойства генов, то необходимо предположить наличие надструктурной основы, которая обнаруживала бы отличительные свойства гена.

Хотя к этой проблеме было привлечено внимание многих специалистов, главную роль в разрешении этого вопроса сыграл рентгеноструктурный анализ. Подвергнув молекулы нуклеиновой кислоты рентгеноструктурному анализу, удалось, основываясь на данных этого анализа, составить несколько моделей, однако оказалось невозможным установить, которая из них полностью удовлетворяет отличительным признакам гена. Тем временем в 1953 г. Watson и Crick, используя результаты физических исследований структуры нуклеиновых кислот, принадлежавшие главным образом Wilkins с соавт., выдвинули сыгравшую поистине историческую роль модель строения двойной цепи молекулы ДНК. Эта модель своим остроумным решением проблемы подтвердила все, что уже было ясно о характере и поведении гена до того времени, и послужила важнейшим открытием, ознаменовавшим новую эпоху в биологии.

д. Разъяснение механизма самовоспроизведения и проявления признаков

Вслед за этим разъяснение структуры ДНК послужило поводом для дальнейшей разработки проблемы воспроизведения гена.

Вначале Watson и Crick, основываясь на своей модели, высказали мысль о структуре воспроизведения, а в 1956 г. Kornberg с соавт. доказали, что ДНК, служащая матрицей, подвергается ферментативному синтезу. А позднее Cairns (1963, 1966) с помощью автордиографического метода получил прямое изображение структуры ДНК в клетках бактерий и человека.

Когда стал ясен механизм воспроизведения генетической ДНК, то следующей проблемой становился процесс проявления отличительных признаков. Первым, кто подал мысль о предопределенности структуры белков в соответствии с генами, был, как описано ниже, Pauling (1949). Эта идея берет начало с момента появления представлений о молекулярном заболевании, основанных на наблюдениях изменений гемоглобина крови человека. В последующие годы [несмотря на то, что эти предположения были конкретно подкреплены исследованиями Ingram (1958)] на основании упомянутой концепции описанный принцип «один ген — один фермент» пришлось заменить принципом «один ген — один белок», а позднее — принципом «один ген — одна полипептидная цепь».

Параллельно с этими успехами значительный прогресс был достигнут в изучении микроструктуры генов методом рекомбинации. Основоположником этой отрасли знаний является Benzer (1957). Ученый, осуществляя детальный генетический анализ бактериофага, ввел понятие о трех микроединицах для обозначения генов. А именно: наименьшую единицу рекомбинации он предложил обозначать «рекон», наименьшую единицу мутации — «мутон», а наименьшую функциональную единицу — «цистрон». Сопоставив эти единицы со строением молекулы ДНК, Benzer выразил предположение, что отрезок цепи ДНК, расположенный под двумя нуклеотидами, — это «рекон»; «мутон» включает 5 нуклеотидов и «цистрон» расположен в составе одной полинуклеотидной цепи.

Если следовать этой концепции, то теорию «один ген — один фермент» можно заменить теорией «один ген — одна полипептидная цепь», а затем и теорией «один цистрон — одна полипептидная цепь».

Далее, если предположить, как сказано выше, что между геном и белком существует прямое соответствие, то впоследствии все внимание сконцентрируется на том, каким образом специфичность, присущая гену, будет скопирована процессом синтеза белка.

Хотя вначале Crick (1958) уже подразумевал под ДНК генетическую информацию в качестве одной из гипотез, и это выдвинуло новую теорию об определенности структуры белков при посредстве РНК, тем не менее именно начиная с этого периода одна за другой начинают появляться публикации научных исследований, данные которых значительно превосходили предварительные наброски теории кодирования генетической информации и синтеза белков, подкрепив тем самым правильность гипотезы Crick.

Во-первых, Hoagland (1958) указывал, что аминокислоты, формирующие белки, присоединяются к транспортным РНК (тРНК), которые являются одним из типов РНК, причем образованная аминоцил-тРНК участвует в процессе образования пептидных связей. Вслед за этим, после раскрытия типов и свойств тРНК, Holley в 1964 г. определил порядок расположения оснований в тРНК, которая содержит 77 нуклеотидов. С одной стороны, выяснилось, что рибосома, являющаяся основным компонентом, содержащим РНК, является местом синтеза белка; кроме того, в результате исследований Volkin и Astrachan (1956) вы-

явилось, что существуют информационные РНК (иРНК), или матричные РНК (мРНК), которые быстро включаются в состав рибосом.

Таким образом мРНК, используя ДНК в качестве матрицы, подвергается синтезу при помощи катализатора мРНК-полимеразы и при посредстве тРНК осуществляется синтез белков. То есть, одновременно пролился свет на два процесса: перевод генетической информации, содержащейся в ДНК, в мРНК (транскрипция) и перевод информации с РНК на белки (трансляция).

е. Установление кода для записи генетической информации

Когда таким образом были выяснены процессы транскрипции и трансляции генетической информации, пришлось строить предположения о том, каковы соответствия между полинуклеотидами ДНК и полипептидной цепью белков. Это в конечном счете привело к следующей проблеме: каким образом порядок расположения оснований ДНК и мРНК может определить последовательность аминокислот, составляющих белок. Иными словами, какое соответствие существует между информацией, записанной на нити ДНК и мРНК, складывающейся из 4-буквенного алфавита нуклеиновых оснований — аденин (А), гуанин (Г), тимин (Т), [урацил (У)], цитозин (Ц), — и информацией, записанной в цепях белков и состоящей приблизительно из 20-буквенного алфавита аминокислот. Это затрагивает одну из проблем расшифровки кодов.

Первым сформулировал эту проблему физик-теоретик Gamov. И хотя позднее проблема получила свое развитие благодаря Crick и др., фактическое подтверждение было сделано главным образом в результате исследований по включению аминокислот в бесклеточные системы и исследований по синтезу полинуклеотидов.

Nierenberg и Weigle (1961), применяя в качестве матрицы полиуридиловую кислоту, представляющую собой один из видов синтетических полинуклеотидов, получили полифенилаланин. Ученые рассматривали изучение условий создания полипептидных цепей, состоящих из полифенилаланина, как первый шаг в разрешении проблемы. Однако почти одновременно исследования проводились также под руководством Ochoa (1962) и Khorana с соавт. (1965), и

к 1967 году...
для всех...
Все эти...
лент...
троя нуклеотид...
рий триплетной...
маленько структу...
женем современ...
веден в табл. 1.1.

ДНК	РНК	А	У
А У		Фен	Фен
		Лей	Лей
		Лей	Лей
		Лей	Лей
Г Ц		Лей	Лей
		Лей	Лей
		Лей	Лей
		Лей	Лей
Т А		Иле	Иле
		Иле	Иле
		Иле	Иле
		Иле	Иле
Ц Г		Вал	Вал
		Вал	Вал
		Вал	Вал
		Вал	Вал

ж. Механизм...
Описанные выше с...
тепов в нитевидной...
тевой информации...
че говоря — функци...
взаимосвязи...
и сроки его возникн...
Если рассматрив...
ней развития...
2

к 1967 г. была разрешена проблема расшифровки кода для всех аминокислот.

Все эти исследования в сумме показали, что в основе лежит определение специфичности одной аминокислоты тремя нуклеотидами ДНК или мРНК, что именуется теорией триплетного кода, которая наряду с описанной выше моделью структуры ДНК является самым великим достижением современной генетики. Перечень этих кодов приведен в табл. 1.1.

Таблица 1.1

Таблица кодов ДНК и мРНК

I		II				III	
ДНК	РНК	А У	Г Ц	Т А	Ц Г	РНК	ДНК
А	У	Фен	Сер	Тир	Цис	У	А
		Фен	Сер	Тир	Цис	Ц	Г
		Лей	Сер	Уаа	Уга	А	Т
		Лей	Сер	Уаг	Три	Г	Ц
Г	Ц	Лей	Про	Гис	Арг	У	А
		Лей	Про	Гис	Арг	Ц	Г
		Лей	Про	Гли	Арг	А	Т
		Лей	Про	Гли	Арг	Г	Ц
Т	А	Иле	Тре	Асн	Сер	У	А
		Иле	Тре	Асн	Сер	Ц	Г
		Иле	Тре	Лиз	Арг	А	Т
		Иле	Тре	Лиз	Арг	Г	Ц
Ц	Г	Вал	Ала	Асп	Гли	У	А
		Вал	Ала	Асп	Гли	Ц	Г
		Вал	Ала	Глу	Гли	А	Т
		Вал	Ала	Глу	Гли	Г	Ц

ж. Механизм регуляции функции генов

Описанные выше сведения посвящены коллинеарности генов в питевидной информации, скрытой в ДНК, и в нитевидной информации, заложенной в структуре белка, иначе говоря — функциям структурного гена. Вместе с тем возникает вопрос: «Что определяет объем синтеза белков и сроки его возникновения?»

Если рассматривать организм сравнительно низких ступеней развития, то здесь не приходится сомневаться, что

гены, отрегулировав соответствующим образом свои функции, иногда наиболее активно действуют в отдельных органах и тканях и периоды, которые нельзя было бы назвать четко установленными сроками. Данные о развитии и дифференцировке эмбриона со всей очевидностью иллюстрируют это. То же самое явно можно проследить на примере довольно заметных изменений, которые происходят в объеме белков и ферментов и возникают в тех же органах и тканях в периоды их развития. Прямым примером, показывающим активность и пассивность функций генов на морфологическом уровне, может служить феномен вздутия, наблюдаемый в большой хромосоме мухи.

Регуляцию подобных функций генов издавна связывали с проблемой клеточной дифференцировки, в частности, относя ее к области генетики физиологии развития. Однако на молекулярном уровне этим знаниям открыли путь французские генетики Jacob и Monod (1961), предложившие на основе своих исследований об образовании β -галактозидазы кишечной палочки теорию об опероне. (Для детального ознакомления см. том II данной серии.)

Хотя у человека — высшего живого организма — практически почти не получено никаких конкретных сведений о регуляции генетических функций, теория оперона наводит на ценные идеи, позволяющие раскрыть смысл трудно объяснимых биохимических изменений, участвующих в процессе мутации структурного гена. В последующей главе этот момент будет затронут вновь.

Как описано выше, благодаря замечательным успехам за последние десятилетия в области биохимической генетики функции гена стали рассматриваться в сопоставлении с химическими структурами. Однако какой ход примет развитие биохимической генетики человека в этом процессе и, кроме того, какую роль сыграет эта отрасль в общем учении о биологической генетике в целом, — для разъяснения всех этих вопросов ниже будет сделана попытка представить общий обзор.

1.2. БИОХИМИЧЕСКАЯ ИНДИВИДУАЛЬНОСТЬ ЧЕЛОВЕКА

Человек за свою зрелую жизнь ■ течение каких-нибудь 40 лет, как известно, успевает усвоить и переработать около 38 000 л воды и около 6 т пищевых продуктов. Благо-

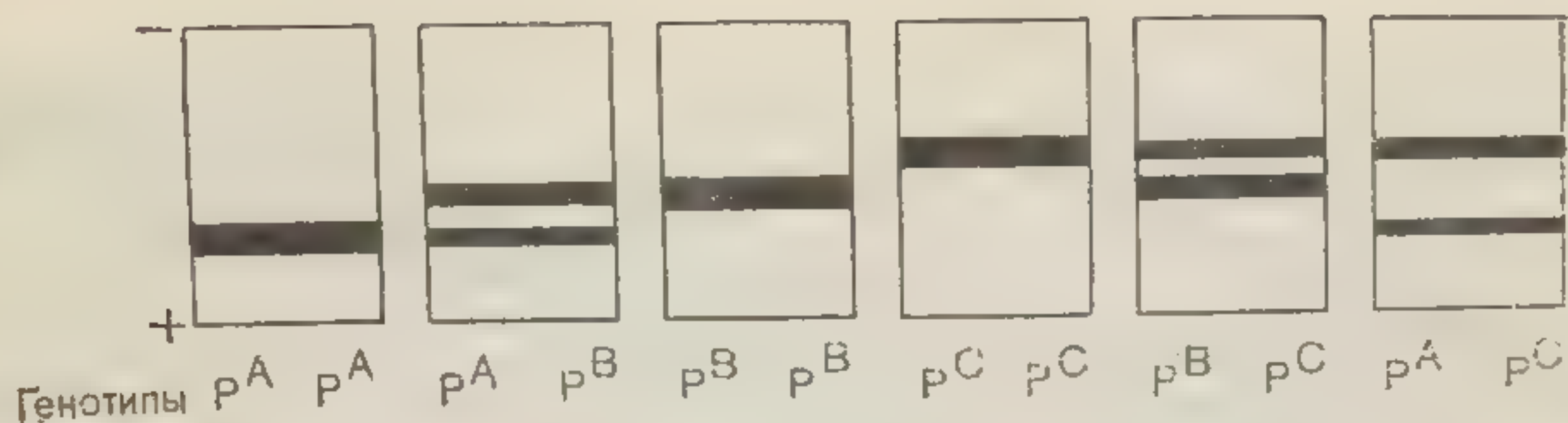


Рис. 1.1. Электрофореграмма содержания некоторых видов белка в крови (схема).

даря тому, что человек вводит в свой организм в качестве основных источников питания, кроме воды, углеводы, жиры, белки, аминокислоты, а также неорганические вещества и витамины, расщепляет, впитывает и выделяет все это, он живет, используя энергию, полученную в результате этих процессов.

Пути такого обмена веществ настолько взаимно переплетены, что даже на первый взгляд превосходят по своей сложности всякое воображение. Если, используя соответствующую методику, выделить различные биохимические симптомы и произвести их частичную или полную оценку, то станет совершенно очевидным, что между отдельными индивидуумами обнаруживаются многочисленные отличия. Их называют индивидуальными биохимическими различиями, или биохимической индивидуальностью. Надо полагать, что такая индивидуальность скрытно проявляется в присущих тем или иным людям физиологических особенностях и, в частности, в подверженности заболеваниям.

Такие индивидуальные различия вначале были выявлены в показателях некоторых компонентов в жидкостях тела человека. Однако за последние годы, когда химия ферментов достигла успехов, а кроме того, когда в арсенал биохимических методов были введены радиоактивные изотопы, раздел биохимии важных органов, занимающийся анализом процессов обмена веществ в организме человека — клиническая химия — достиг значительного прогресса, а в результате доступным оказалось также выявление индивидуальных различий метаболизма человека в аспекте его динамики.

Картина биохимических индивидуальных различий по своим отличительным признакам неодинакова. Хотя наши представления и зависят от уровня познаний, который в той или иной степени определяет понимание самой сути проявления данных признаков, тем не менее с точки зре-

ния биохимических особенностей распределения внутри популяций можно ориентировочно выделить два объекта для анализа. В качестве первого объекта можно взять дискретные различия, которые можно обнаружить на электрофореграммах некоторых видов белка и ферментов, содержащихся в кровяных шариках и плазме крови. Эти дискретные различия можно разделить на несколько четко выделяемых типов, что иллюстрируется рис. 1.1 в качестве примера одной из моделей. Вторым объектом могут служить, например, показатели, обнаруживающие непрерывную изменчивость или же квазинепрерывную изменчивость, как это происходит с уровнем мочевой кислоты в сыворотке крови или содержащегося в крови сахара. Для того чтобы конкретно понять эту картину, безотносительно в аспекте физиологии или патологии, необходимо проиллюстрировать несколько типичных биохимических признаков.

а. Нарушения в метаболизме, связанные с проявлением единичного гена

Как уже было описано выше, впервые раскрыл индивидуальные биохимические различия на уровне обмена веществ, как у человека, так и у других видов живых организмов, Garrod (1902). Позднее, и вплоть до наших дней, были открыты сотни видов врожденных аномалий метаболизма, которые определяются мутантным геном в паре гомологичных локусов, причем наряду с разъяснением структуры аномалий в обмене веществ имеется также немало примеров раскрытия сущности нарушений физиологических функций, таких нарушений, которые в течение многих лет оставались непонятными. Так, например, в связи с выяснением процессов сахарного обмена до настоящего времени уже раскрыто 30 с лишним видов врожденных аномалий метаболизма. И, кроме того, если говорить о метаболизме глюкозы, то благодаря разъяснению структуры дефектов в обмене веществ значительно ускорилось само выявление нормального пути обмена глюкозы.

Следовательно, эти аномалии в обмене веществ не только служат объектом интереса для медицины, поскольку позволяют описать необычные биохимические мутанты в популяциях, но еще и являются важнейшим материалом для выяснения физиологических механизмов обмена веществ, а также важнейшим справочным материалом для анализа этиологии других заболеваний и различных пато-

логических состояний у больных. В последние годы это обстоятельство послужило причиной растущей заинтересованности и затронутых вопросах не только со стороны генетиков, но и со стороны биохимиков, в первую очередь со стороны практикующих врачей.

В последующей главе будет вновь говориться об этих фундаментальных моделях.

6. Чувствительность к лекарственным средствам

Медикаменты независимо от того, введены ли они в организм с лечебной целью, или случайно попали в него, подобно питательным веществам и веществам, вырабатываемым внутри самого организма, проходят через определенные стадии метаболизма, оказывая свое воздействие на организм, расщепляясь и выделяясь из тела человека. Следовательно, если бы на пути метаболизма таких медикаментов появились какие-либо дефекты, то это привело бы к нарушениям в путях их обмена, а затем вызвало бы и соответствующие патологические реакции в организме, причем иногда в результате отрицательного воздействия медикаментов на организм это может привести даже к смертельному исходу. Раньше в медицине было принято считать, что подобные явления основываются на «предрасположении организма», и хотя в настоящее время ведутся многочисленные исследования по поводу истинного характера данного явления, пожалуй, лучше всего откровенно признать, что проблема по сути дела остается все еще почти не разрешенной.

В большинстве случаев подобная чувствительность к лекарственным средствам, по всей вероятности, является проявлением полигенных признаков, т. е. результатом сложного взаимодействия между многочисленными генами и окружающей средой, и в общем не подчиняется ординарным законам генетики. Так, например, после введения антикоагулянта дикумарила и измерения времени его выведения из кровотока, как это проиллюстрировано на рис. 1.2, очевидно, что его концентрация уменьшается почти непрерывно и период полураспада занимает довольно широкий диапазон времени, начиная от самого короткого периода — в 10 с лишним часов и кончая самым длинным периодом — в 40 с лишним часов (Motulsky et al., 1964). Дикумарин и некоторые другие медикаментозные средства нужно рассматривать как вызывающие наиболее

значительные изменения в метаболизме организма, что в свою очередь вытекает из индивидуальных различий на пути метаболизма лекарственных средств. И можно было полагать, что полигенные изменения имеют самое непосредственное отношение к подобной медикаментозной чувствительности.

Однако, с другой стороны, начиная примерно с 1956 г. понемногу стало проясняться, что медикаментозная чувствительность определяется единичным гомологичным локусом. Одной из моделей такого рода метаболизма может служить гидразид изоникотиновой кислоты (INH), широко применяемый в клинической практике в качестве противотуберкулезного средства.

Надо полагать, что для гидразида изоникотиновой кислоты после его всасывания самым ответственным процессом на пути инактивации является ацетилирование. В то же время, если попытаться проследить за скоростью ацетилирования гидразида изоникотиновой кислоты в экспериментах на многих отдельных индивидуумах, то, как это иллюстрируется рис. 1.3, ситуация будет значительно отличаться от примера с дикумарином. А именно: распределение можно будет подразделить на три пика по типу инактивации: замедленный тип, быстрый тип и промежуточный тип (Sunahara et al., 1964, 1965). В результате анализа, проведенного на примере многих отдельных семей, выяснилось, что эти типы почти безошибочно определяются парой аллелей нормального хромосомного локуса (I^R , а также I^S).

В связи с этим в 1958 г. Motulsky высказал мысль о важности сферы научных исследований, объектом которых явилось бы изучение тех моментов чувствительности к медикаментам, которые подчиняются обычным законам генетики. Vögel (1959) же назвал данную область науки фармакогенетикой.

В настоящее время пределы использования фармакогенетических признаков человека на практике весьма ограничены и число их отнюдь невелико. С точки зрения взаимодействия генов и окружающей среды можно выделить две крупные категории.

Первая из них — это воздействие латентных генотипов, обнаруживаемых при поступлении в организм определенных лекарственных средств, иными словами, проявление мутаций на пути метаболизма лекарственных средств. При этом в данном случае организм не только не усваивает

Рис. 1.2.

Кривая распределения периода полураспада дикумарина в крови (Motulsky et al., 1964).

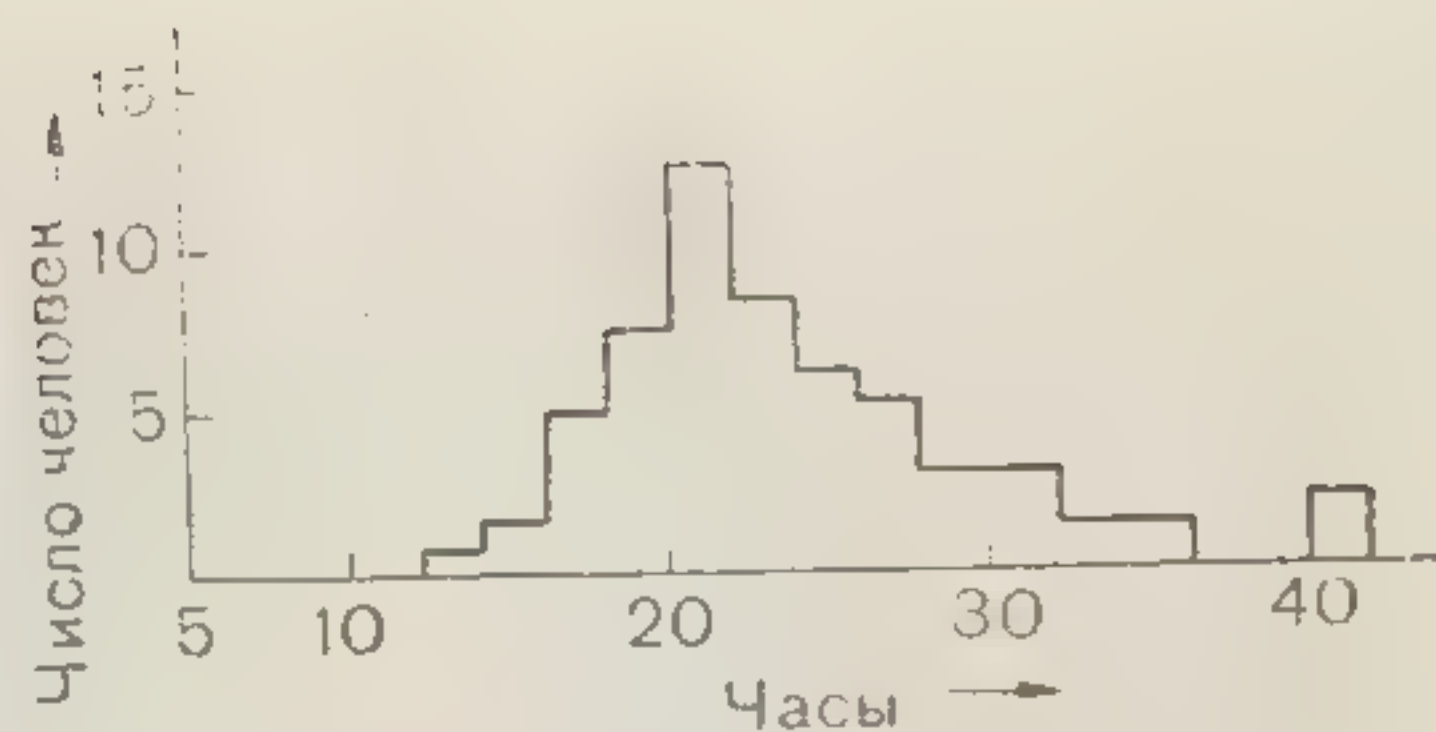
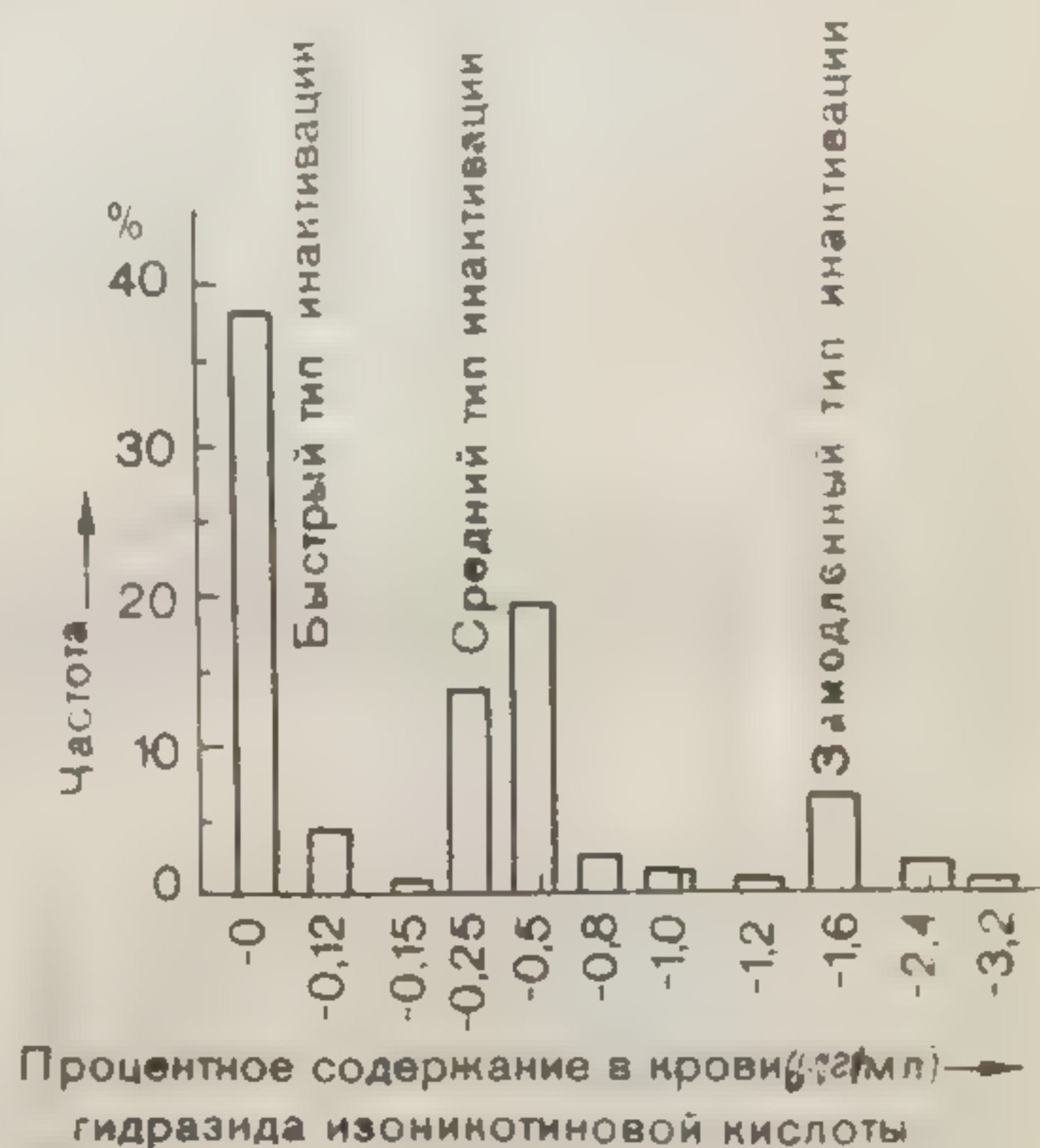


Рис. 1.3.

Скорость инактивации гидразина изоникотиновой кислоты при обследовании 1000 японцев; нагрузка гидразидом изоникотиновой кислоты 4 мг/кг (Sunahara et al., 1964).



медикаментов, но даже четко не выявляется само существование мутантного гена, а также его влияние на жизнеспособность, в особенности в условиях отсутствия помех. Вторая категория — это пример проявления дефектов обмена в условиях наличия мутаций на пути метаболизма лекарственных средств посредством определения отклонений на пути метаболизма (табл. 1.2).

Как описано выше, объекты исследований по данной отрасли знаний пока еще ограничиваются узким кругом, тем не менее прогресс в данной области, не говоря о методологии антропогенетики и биомеханики, постепенно привносит ясность в понимание вопроса о существовании неизвестного генного локуса, являясь постоянным источником новой информации в сфере биохимической, а равно и популяционной генетики. С другой стороны, фармакологи, клиницисты и физиологи постепенно приобретают довольно широкий кругозор в области специфики фармакогенетического воздействия, оказываемого на организм-хозяин. В будущем параллельно с развитием фармакоге-

Примеры фармакогенетических отличительных признаков

Заболевание	Медикамент	Заболевание	Медикамент
<i>I группа</i> Медикаментозная гемо- литическая анемия (недоста- точность Г-6-Ф-дегидроге- назы) Повышенная чувстви- тельность к нуксамесонию Неврит, вызванный гидра- зидом изоникотиновой ки- слоты Устойчивость к кумарину	Производные 8-амино- хинолина и пр. Сукцинил-дихолин Гидразид изоникотино- вой кислоты, сульфаме- сазин и пр. Вафарин	Виды нестабильного гемо- глобина Одна из форм сахарного ди- абета Метгемоглобинемия Агаммаглобулинемия Гипофосфатемический ра- хит Синдром Дауна Синдром Криглера—Найяра	Сульфамиды Эпинефрин, глюкагон Соли азотистой кислоты Различные вакцины Витамин D Препараты атропина Салициловые препараты, ментол, тетрагидрокорти- зон
Группа пирамидных симп- томов Повышенная чувстви- тельность к противоэпилептиче- ским препаратам	Производные фенотиа- зина Дифенилгидантоин	Синдром системной крас- ной волчанки Сахарный диабет Подагра	Гидразин Препараты хлортиазида, стероидные препараты Салициловые препараты, хлортиазид
<i>II группа</i> Заболевание крови, вызван- ное отсутствием каталазы Пентозурия Острая перемежающаяся наследственная порфирия	Перекись водорода Амидопирин, глюкуроно- лактон Снотворные средства группы барбитуратов и др.		

I группа — латентные нарушения обмена под действием специфических медикаментов приобретают характер явных.
II группа — явные нарушения обмена уже имелись; кроме того, под действием специфических медикаментов были обнару-
жены характерные реакции организма.

В. Индиг
показателей
в сочетании
Для того чтобы
но восприимчиво
ко типов, отра
организм, состо
ственным образ
образных комп
внимательно сл
зателей, устано
дума. Первым
Williams (1951
взрослого чело
также различн
чем ученый пр
координатах д
Изображенные
подразумевает
среднего инди
действительно
во всяком слу
обратить вним
наты D и E,
имеют поразит
В данных п
центрации п
чества прицип
с учетом влия
результате ф
загрязнение ф
постей, а так
четкие. И хо
зрение данн
ности Wills
жизни типы
наются инди

нетики не только человека, но и других видов живых организмов будут предоставлены еще большие возможности для подведения базиса под данную отрасль, а следовательно, и для ее дальнейшего прогресса.

**в. Индивидуальные различия с точки зрения
показателей компонентов человеческого организма
в сочетании с порогом чувствительности**

Для того чтобы выделить характерные соматотипы, можно воспользоваться способом классификации на несколько типов, отразив в этом в той или иной степени весь организм, состоящий из множества элементов. Соответственным образом и при одновременном изучении разнообразных компонентов обмена веществ необходимо внимательно следить за определенными тенденциями показателей, установленных для каждого отдельного индивидуума. Первым, кто заострил на этом внимание, был Williams (1951). Он сделал объектом своих исследований взрослого человека и подвергал анализу чувство вкуса, а также различные компоненты слюны, крови и мочи, причем ученый проиллюстрировал эти показатели в полярных координатах для каждого отдельного индивида (рис. 1.4). Изображенные на чертеже полярные координаты: А — подразумевают усредненные данные для гипотетического среднего индивидуума, хотя и имеется подозрение, что в действительности таковой если и существует в природе, то во всяком случае встречается чрезвычайно редко. Следует обратить внимание на тот момент, что полярные координаты D и E, представляющие монозиготных близнецов, имеют поразительное сходство.

В данных примерах приведен предварительный подсчет концентрации компонентов на основании качества и количества принимаемой обследуемым объектом пищи, а также с учетом влияний, оказываемых на эту концентрацию в результате физического труда и прочих энергетических затрат, а также в связи с нарастанием возрастных особенностей. И хотя эти подсчеты не всегда позволяют получить четкие данные, тем не менее, если основываться на точке зрения Williams, то можно отметить, что и в действительности типы подобных полярных координат в течение всей жизни индивидуума сколько-нибудь существенно не изменяются.

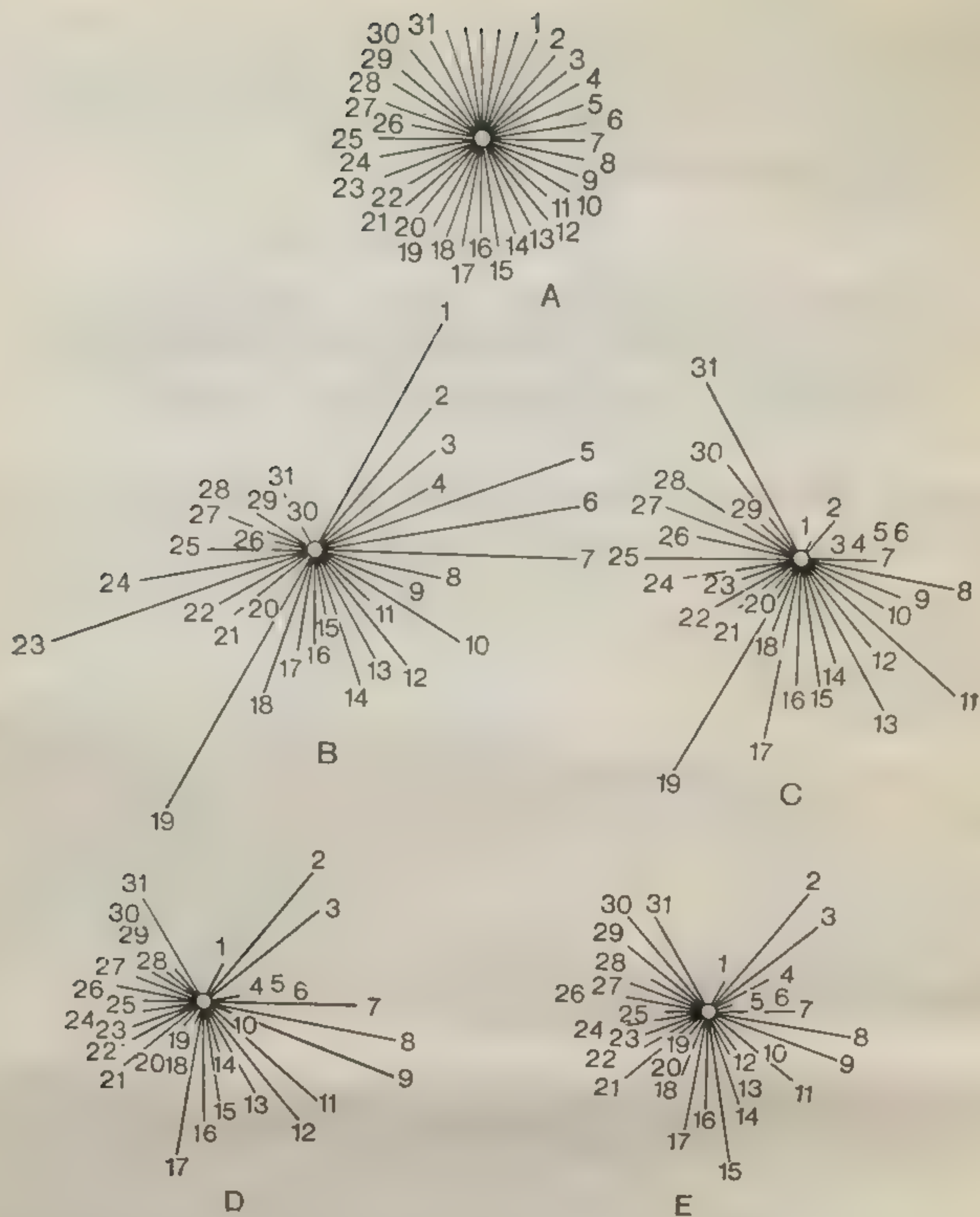


Рис. 1.4. Полярные координаты, иллюстрирующие обмен различных веществ в организме человека (Williams, 1956).

А: гипотетический средний индивидуум, В, С: фактические примеры взрослых индивидуумов, D, E: монозиготные близнецы. Степень вкусовой чувствительности: 1—креатинин; 2—сахароза; 3—KCl; 4—NaCl; 5—HCl; компоненты слюны: 6—мочевая кислота; 7—глюкоза; 8—лейцин; 9—валин; 10—цитруллин; 11—аланин; 12—лизин; 13—таурин; 14—глицин; 15—серин; 16—глутаминовая кислота; 17—аспарагиновая кислота; 18—соли лимонной кислоты; 19—основание с Rf 0,28; 20—кислота Rf 0,32; 21—гонадотропный гормон; 22—рН; 23—пигмент/креатиновый коэффициент; 24—хлорид/креатиновый коэффициент; 25—гиппурат/креатининовый коэффициент; 26—креатинин; 27—таурин; 28—глицин; 29—серин; 30—цитруллин; 31—аланин.

При всем этом если суммировать достаточно большое число показателей компонентов и учитывать определенные склонности каждого отдельного индивидуума, то все-таки мысль о причастности генотипов к данным показателям будет совершенно очевидной.

г. Сравнительно редкие биохимические мутации, выявленные при помощи электрофореза с движущейся границей

Способ маркировки физических свойств компонентов тела, развившийся из классического метода, при котором использовалось высаливание, за последние годы прошел стадию применения электрофореза с движущейся границей по Tiselius (1937) и достиг более усовершенствованной стадии в виде зонального электрофореза на бумаге. Далее, за последние годы на смену фильтровальной бумаге были предложены в качестве поддерживающей среды целлюлозно-ацетатная пленка, крахмальный гель, акрил-амидный гель и т. д. Кроме того, дополнение этих способов иммуноэлектрофорезом по методу Grabar (1953) и способом ультрацентрифугирования позволяет провести анализ таких компонентов достаточно детально.

К наиболее полно изучаемым объектам относятся белки, содержащиеся в эритроцитах и плазме крови, а также сложные белки и белки, образовавшиеся в результате мутаций. При этом, хотя и не всегда удается этого добиться, часть белков индивидуализируется и по мере исследования структуры и сопоставления с функциями присоединяется к уже известной группе, включающей в настоящее время нижеописанный аномальный гемоглобин, а также альбумин, α_1 -антитрипсин, церулоплазмин, β -липопротеин, γ -глобулин, фибриноген и их мутанты (при нарушениях свертывания и гетеропротеинемии).

д. Полиморфные белки

Хотя полиморфные белки относятся к числу довольно редких случаев биохимических мутантов, тем не менее, как это нередко случается внутри популяций, сочетание нескольких аллельных признаков встречается довольно часто. Это явление называется генетическим полиморфизмом, причем этот феномен можно наблюдать также на примере некоторых биохимических признаков.

Выяснение структуры сохранения такого полиморфизма посредством объяснения взаимозависимости между различными причинными факторами, определяющими наследственную структуру популяций, главным образом за счет естественного отбора, превратилось в важнейшую проблему популяционной генетики и эволюционной генетики.

Ранее в качестве маркеров при исследованиях, проводившихся в этой области, использовались в основном различные группы крови и характер секреции либо чувствительность к фенилтиомочевине и т. п., но приблизительно с 1955—1957 гг. вместе с последовательным изучением механизмов генетических мутаций, происходящих с белками и изоферментами крови, информация о явлениях полиморфизма стала носить достаточно детальный характер. Этому, как уже было описано выше, в значительной мере содействовала разработка методов электрофореза с движущейся границей, который превзошел по своей простоте все имевшиеся ранее возможности разделения веществ. В равной степени этому содействовали и открытия иммунохимии. Вместе с тем самым первоначальным примером послужили гликопротеиды гаптоглобина, который определяется в составе α_2 -глобулинов сыворотки крови.

Хотя Jayle открыл гаптоглобин еще в 1938 г., только в 1955 г. Smithies, используя метод электрофореза в крахмальном геле, служащем поддерживающей средой, обнаружил три фенотипа гаптоглобина, обусловленных соответствующими генотипами, что сразу же привлекло к себе внимание. Позднее и до настоящего времени при посредстве различных методов электрофореза были обнаружены группы трансферрина, Gm и Gc и система Inv и пр., всего более 30 видов полиморфных белков.

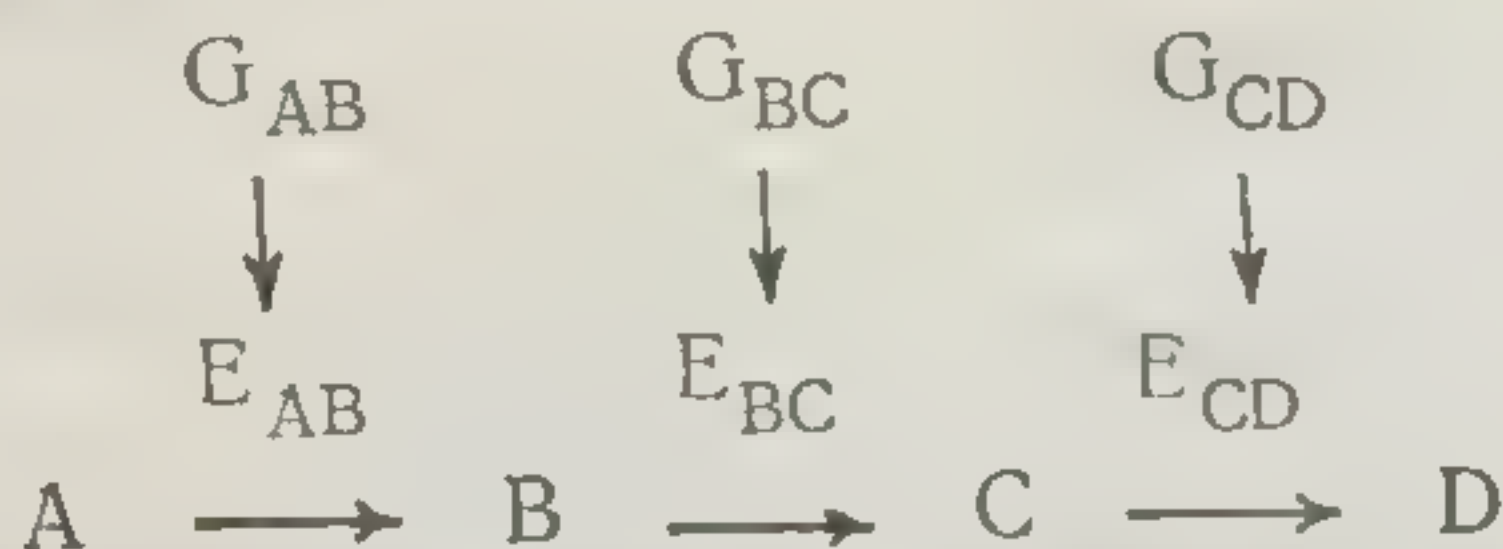
Все это не только оказалось полезным для оценки биохимических особенностей человеческих рас и популяционных структур, но еще и послужило исходным материалом для распознавания определенных наследственных предпосылок в отношении синтеза белков.

1.3. ПРЕПЯТСТВИЯ НА ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА, СВЯЗАННЫЕ С ЕДИНИЧНЫМ ГЕНОМ

В настоящее время открыто более ста видов аномалий метаболизма, вызванных единичным геном. Ниже будет сделана попытка применить к пониманию этих нарушений установившиеся рабочие гипотезы начиная от концепций Garrod и кончая теорией Beadle и Tatum.

Если принять E_{AB} — E_{CD} в качестве ферментов, служащих катализаторами биохимических реакций на всех данных этапах одного отдельного пути метаболизма, начиная от вещества А до вещества D, то нормальные аллельные гены G_{AB} — G_{CD} в соответственной независимости друг от

друга определяют активацию нормальных ферментов. Таким образом, там между единицей наследственности G и единицей биохимической реакции E устанавливается прямая зависимость.



В случае изменения структуры гена G_{CD} или в случае возникновения препятствия в процессе транскрипции G_{CD} , а также в случае возникновения блока в выработке фермента E_{CD} специфичность активации, очевидно, будет утрачена. И в результате возникнет следующее явление.

а. Неполюценное образование веществ

Процесс реакции $C \longrightarrow D$ приостанавливается, вещество D не вырабатывается, не вырабатывается и вещество, берущее начало от D:



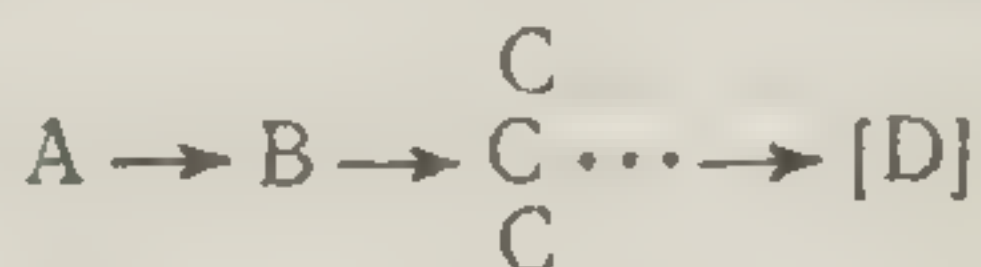
При одной из форм диабета (von Gierke) отсутствует активация в печени глюкозо-6-фосфатазы, в результате этого не происходит нормального превращения глюкозо-6-фосфата в глюкозу, а следовательно, в особенности в те часы, когда желудок бывает пуст, значительно падает концентрация сахара в крови. Кроме того, из этих соображений можно предполагать также, что при появлении дефектов на определенных ступенях пути синтеза тироксина и кортизола проявляются некоторые формы кретинизма и адреногенитальных синдромов. Однако два последних заболевания еще отнюдь не могут быть полностью объяснены механизмом аномального метаболизма, поэтому описанные выше предварительные выкладки все еще не выходят за рамки предположений.

Если вещество D в качестве конечного продукта имеет отношение к механизму обратной связи, то может случиться, что из-за блока в выработке вещества D разрушится механизм, регулирующий вторичный метаболизм. Так, например, при оротовой ацидурии в результате дефицита в клетках цитидин-трифосфата в избыточном количестве вырабатывается оротовая кислота. Отсутствие конечного

продукта приводит к нарушению нормального механизма обратной связи, причем отсутствует фактор активации первого фермента синтеза аденозинтрифосфорной кислоты и пиримидина, и в конечном счете вырабатывается еще больше оротовой кислоты.

б. Накопление субстрата

Если в процессе реакции $C \rightarrow D$ встречаются препятствия, то иногда из-за этого в жидкости организма накапливается субстрат C , имеющий непосредственное отношение к данной реакции.



Такое явление основывается на блокировании реакции, иными словами, оно оказывается основой для возникновения заболеваний, связанных с отложениями этого субстрата в тканях.

По-видимому, типичным является ряд заболеваний диабетической этиологии, основывающихся на недостатке в печени и мышцах фермента, отщепляющего фосфорную кислоту (фосфорилазы), или заболеваний, связанных с недостатком фермента, расщепляющего глюкоцереброзид, или же таких, как болезнь Гоше, возникающая в результате накопления во внутренних органах больших количеств цереброзида, и пр.

Среди этих заболеваний, вызванных отложениями, имеются примеры, когда повышенное количество субстрата C в жидкости организма вызывает гипер- C -емию, а повышенное выделение в мочу вещества C или его производных вызывает гипер- C - или C' -урию. Выделение с мочой значительного количества гомогентизиновой кислоты при алкаптонурии и выделение L -ксилулозы при пентозурии, а также другие аналогичные явления могут служить примерами подобных заболеваний.

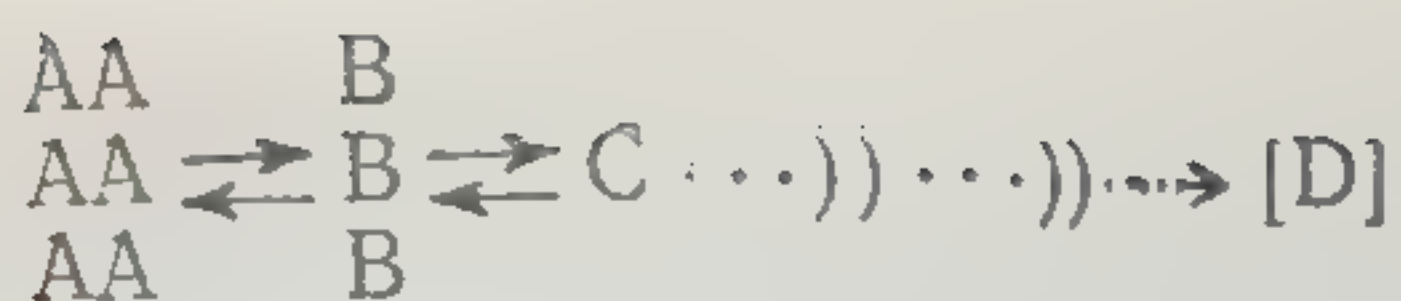
в. Накопление веществ-предшественников

Если бы на этапе, который предшествовал заблокированной реакции, например на стадии реакции $B \rightarrow C$ и $A \rightarrow B$, существовала реверсивность, то происходило бы накопление веществ-предшественников B и A , находящихся в метаболическом процессе впереди C .

В качестве примера
леванна. применяет
сотр. (1953) обнару
ния крови сахаром
процесс: гликоген-
козо-6-фосфорная
сколько позднее в
выяснилось, что од
диабетическую этио
ше, является недост
глюкозо-6-фосфатазы
данном заболевании
ния крови сахаром,
ние концентрации са
причем в печени на
шается содержание
эти процессы берут
ны, являющейся суб
Далее в качестве
нистатонипурию и
на). При первом
накапливается мети
ствующего специфич
и существует предп
дефектами окислите
лот лейцина, изолейц
лотам с разветвлени
субстрат-аминокислот
ства-предшественник

г. Увеличение
Приведем пример
ных путей метаболиз
ем реакций:

При фенилкет
сия фенилала
з глюкозы
А → В



В качестве примера может служить одна из форм заболевания, имеющего диабетическую этиологию. Хотя Cori с сотр. (1953) обнаружили, что важнейшим путем снабжения крови сахаром, осуществляемым в печени, является процесс: гликоген → глюкозо-1-фосфорная кислота → глюкозо-6-фосфорная кислота → глюкоза, тем не менее несколько позднее в результате лабораторных исследований выяснилось, что одной из форм заболевания, имеющих диабетическую этиологию, как это уже было указано выше, является недостаточность ферментативной активности глюкозо-6-фосфатазы в ткани печени. Таким образом, при данном заболевании прерывается важнейший ход снабжения крови сахаром, что вызывает значительное понижение концентрации сахара в крови натошак до 0 ~ 15 мг/дл, причем в печени накапливается гликоген, а в крови повышается содержание молочной кислоты. Вместе с тем все эти процессы берут начало с глюкозо-6-фосфорной кислоты, являющейся субстратом заблокированной реакции.

Далее в качестве еще одного примера можно привести цистатининурию и лейциноз (болезнь «кленового сиропа»). При первом из упомянутых заболеваний в крови накапливается метионин, являющийся субстратом отсутствующего специфического фермента. При втором, — хотя и существует предположение, что оно вызвано какими-то дефектами окислительного декарбоксилирования кетокислот лейцина, изолейцина и валина, являющихся аминокислотами с разветвленной цепью, — в крови накапливаются субстрат-аминокислоты с разветвленной цепью и вещества-предшественники.

г. Увеличение продуктов метаболизма за счет обходных путей

Приведем пример расширенного использования обходных путей метаболизма, который обусловлен блокированием реакций:

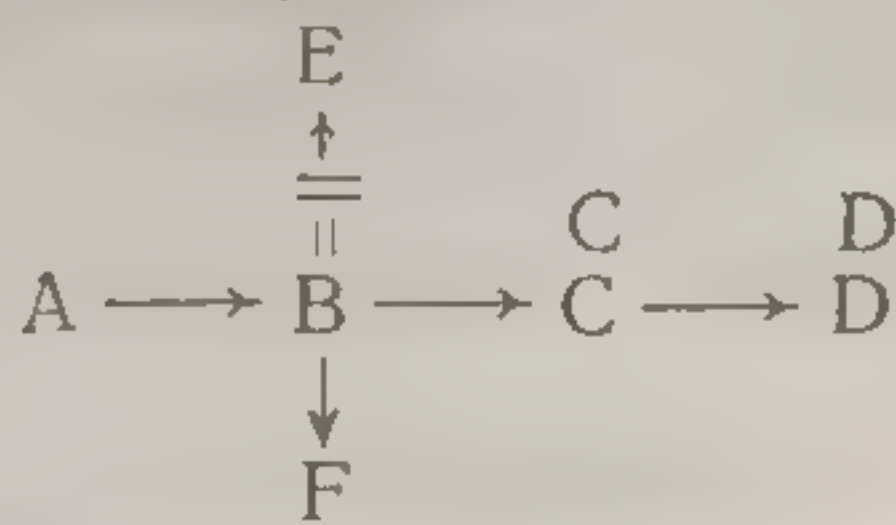


При фенилкетонурии вследствие пониженной активности фенилаланингидроксилазы в жидкости организма на-

капливается фенилаланин, способствуя тем самым образованию фенилацетилглутамина, фенилуксусной кислоты, фенилпировиноградной кислоты и других фенилкетоновых тел, которые, выделяясь с потом и мочой, издают неприятный запах. Другой пример — при первичной гипероксалурии блокируется обмен глиоксиловой кислоты и увеличивается образование щавелевой кислоты — надо полагать, что это тоже происходит по тому же типу.

Вместе с расширенным использованием побочных путей метаболизма, по мере того как накопление вещества С становится причастным к этим побочным путям, необходимо принимать во внимание возможность восстановления индукции ферментов с относительно низкой степенью инактивации.

Кроме описанного блокирования последовательных этапов метаболизма, по всей вероятности, еще существует множество других отклонений в метаболизме, которые подвергают изменениям и физиологические реакции, и константы реакционных цепей. В некоторых случаях, на сравнительно ранней ступени цепи метаболизма, побочные пути частично или полностью блокируются и в результате, очевидно, складывается ситуация, когда меняется способ регуляции факторов реакции. Это расширяет возможности вторичного использования субстрата на важнейших путях метаболизма. Кроме того, ферменты, имеющие отношение к факторам реакций, даже не подвергаясь полному насыщению, активируются параллельно с повышением концентрации субстрата.



Так, например, если блокируется реакция $B \rightarrow E$, то иногда ускоряются и реакции предыдущих этапов $B \rightarrow C \rightarrow D$.

Описанное выше представляет собой явления, происходящие в результате блокирования биохимических реакций и встречающиеся при более или менее ординарном пути метаболизма. Здесь был сделан только приблизительный обзор широко распространенных фактов и, очевидно, помимо этого, существует множество еще не известных в настоящее время моделей.

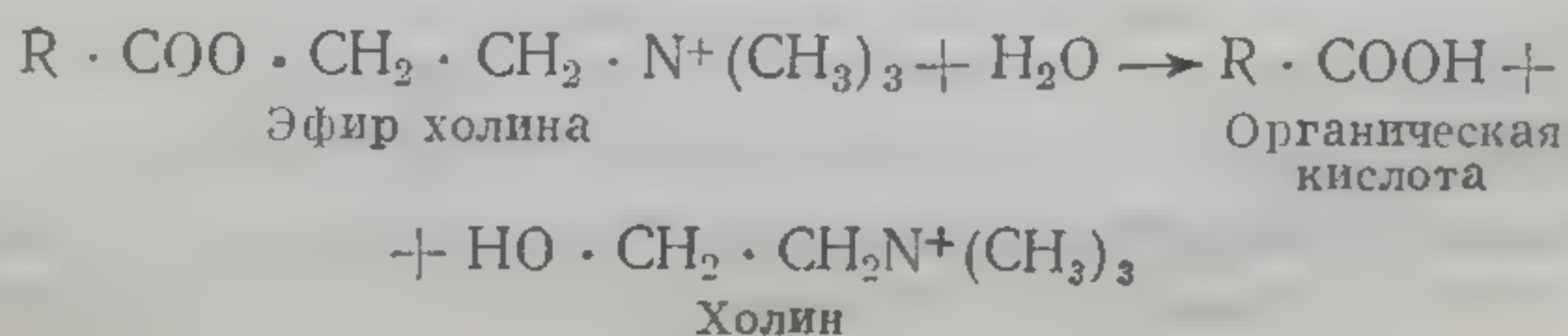
1.4. ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА

На чем же все-таки основываются перечисленные выше дефекты ферментов: на мутациях структурного гена или на мутациях в системе регуляции синтеза белков? Что касается человека, то из-за отсутствия прямых доказательств нельзя сказать об этом ничего определенного. А если ухватиться за те ничтожные познания, которыми мы располагаем, то, по-видимому, придется сделать предположение, что оба упомянутых фактора могут обуславливать эти дефекты.

В настоящее время в области генетического контроля структуры и синтеза белков в человеческом организме наиболее развитыми являются наши знания о гемоглобине, о котором будет говориться ниже. Нужно указать, что пока все еще остается проблематичным, можно ли рассматривать гемоглобин в качестве прототипа для всех структурных и функциональных белков в организме, однако если обобщить эти наши познания, то, очевидно, задаваемые при этом вопросы будут выглядеть примерно так: (1) Изменяется ли в количественном отношении первоначальная активация ферментов ДНК — в результате миссенс-мутации на уровне полинуклеотидов ДНК? и (2) Образуются ли ферменты, имеющие другую структуру и соответственно измененную в качественном отношении функциональную активность? или же (3) Ферменты абсолютно не вырабатываются из-за того, что в результате нонсенс-мутации не происходит надлежащего процесса трансляции информации. В качестве примера, наводящего на мысль о вероятности варианта (2), может служить атипичность холинэстеразы в плазме крови.

а. Атипичная форма холинэстеразы

Холинэстераза является ферментом, который гидролизует группу эфиров холина на холин и органическую кислоту. У людей, как и у других позвоночных, существуют два вида холинэстеразы — истинная холинэстераза и псевдохолинэстераза.



Хотя подлинное физиологическое значение одной из этих видов холинэстераз — псевдохолинэстеразы — еще остается неясным, издавна было известно, что она вызывает гидролитическое расщепление прокаина и других наркотиков. В частности, ее воздействие на сукцинилдихолин — мышечный релаксант, широко применяемый в клинической практике, — имеет свои особенности. Сукцинилдихолин, структурная формула которого представляет 2 ацетилхолина, соединенных ацетильной группой, благодаря своему непрерывному деполяризующему воздействию прерывает передачу нервных импульсов на мышечное волокно и оказывает расслабляющее воздействие на все поперечнополосатые мышцы. Характерной чертой этого соединения является то, что время воздействия его обычной лечебной дозы крайне кратковременно: как правило, основной его эффект заканчивается в течение 2—3 мин. Это происходит потому, что псевдохолинэстераза в сыворотке крови быстро гидролизует сукцинилдихолин на монохолины.

Между тем вскоре после того, как стали часто применять этот лекарственный препарат на практике, в 1952 г., было обнаружено, что он после введения в организм может вызывать парез дыхательных мышц, причем были зарегистрированы примеры аномалий с прекращением дыхания на несколько часов подряд. В конце концов выяснилось, что отмечается тенденция к семейному проявлению такой измененной чувствительности. Вслед за этим Kalow и Genest (1957), полагая, что причина данного явления заключается в превращении нормальной псевдохолинэстеразы в ферментные белки иной структуры, связали это заболевание с наличием атипичной формы холинэстеразы.

Такие атипичные ферменты гидролизуют все субстраты с очень малой скоростью (постоянная Michaelis — высокая), поэтому с точки зрения устойчивости подавляющего большинства псевдохолинэстераз к веществам, замедляющим реакцию (ингибиторам), они отличаются от нормальных ферментов значительно большей чувствительностью. Согласно наблюдениям, проведенным в популяциях, а также в отдельных семьях, нормальные ферменты и атипичные ферменты, обладая аллельными признаками, по-видимому, подвержены изменениям в парах аллельных генов E_1^u и E_1^a в локусах нормальных хромосом. Однако в настоящее время примеров таких атипичных ферментов, не считая эритроцитарной глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы и мутантного измененного фермента, выявлено пока

еще очень мало. Возможно, что подобные изменения в активности ферментов могут происходить еще и в зависимости от мутаций в системе регуляции высшего порядка.

б. Ороговая ацидурия

Структурный ген, определяющий структуру группы ферментов, пути обмена некоторых метаболитов, образует единицу, называемую опероном. Оперон расположен на цепи ДНК, формирующей одну группу, и в том же порядке последовательности. Структурный ген находится под воздействием одного гена-регулятора (рис. 1.5).

На конце оперона находится оператор, который выполняет роль выключателя. В положении «включено» информационные РНК подверглись бы синтезу; следовательно, ферментные белки одновременно продолжали бы синтезироваться. Однако репрессор, инактивируясь и сцепляясь с сегментом оператора, выключает его, в результате чего приостанавливается синтез мРНК. Информационные мРНК отличаются относительной нестабильностью. Эти РНК из-за непродолжительности срока своего существования должны непременно вновь синтезироваться, иначе синтез ферментных белков немедленно остановится.

С одной стороны, репрессор, который вырабатывается благодаря гену-регулятору, в своем исходном состоянии является неактивным и не срабатывает на оператор. Вместе с тем, соединяясь с конечным продуктом D на вышеописанном пути метаболизма $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D$, объем продукта D постепенно увеличивается, а когда этот объем достигает определенного уровня, активизируется репрессор, причем в результате его срабатывания на оператор получается «выключение» и выработка фермента приостанавливается. Предполагается, что в это время срабатывает механизм автоматической регуляции обратной связи.

При оровой ацидурии отсутствует активация двух ферментов, участвующих в обмене оровой кислоты — пироглутаматазы и декарбоксилазы оровой кислоты. И хотя не исключено, что данное явление можно объяснить возникновением мутаций в двух обособленных структурных генах, однако в любом случае абсолютно невероятно, чтобы при одном заболевании постоянно имели место две мутации. Скорее всего вполне допустимо строить предположение, что при наличии оператора, который присоединен к структурному гену, определяющему синтез этих двух ферментов, и в результате влияния со стороны

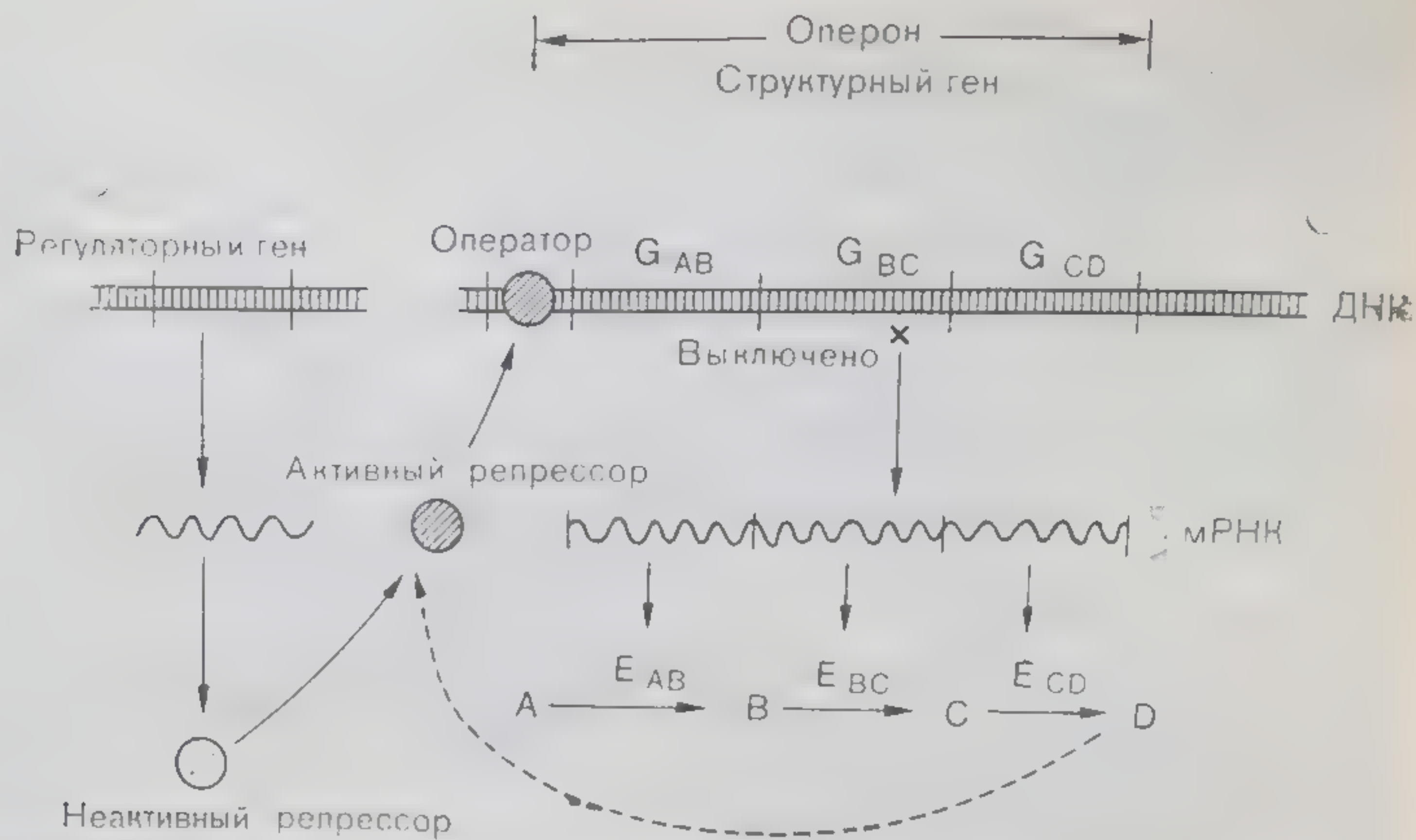


Рис. 1.5. Регуляция синтеза ферментов (Ватанабэ, 1969, с изменениями).

репрессора процесс активации этих двух ферментов подвергается одновременному изменению.

Тем не менее за последние годы, невзирая на наличие упомянутого выше толкования, появилось несколько научных сообщений о трудно объяснимых случаях обменных аномалий. Так, например, у близких родственников могут отмечаться нарушения разных ферментов. Или у больного галактоземией из-за недостаточной активации в эритроцитах галактозы-1-Ф-уридилтрансферазы в печени, которую можно считать нормальной, было выявлено нечто, наводящее с первого взгляда на мысль о мозаике. Хотя эти примеры нельзя считать не поддающимися объяснению при помощи уже известных рабочих гипотез или при помощи других познаний о биохимических мутациях, тем не менее мы все же еще далеки от полного понимания их механизма.

Таким образом в наших знаниях об основных дефектных структурах ферментов еще имеется много неясного и, видимо, необходимо непременно накапливать дальнейшую информацию по основным видам исследований.

1.5. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ БОЛЕЗНИ

Как уже отмечалось, биохимическая генетика и молекулярная биология, сделав основными объектами своих экспериментальных исследований живые организмы срав-

нительно низких ступеней развития, таких, как бактерии и микроорганизмы, достигли замечательного прогресса. Вместе с тем в ходе развития этих отраслей было выявлено, что применение основных принципов и рабочих гипотез к такому высокоразвитому существу, как человек, связано с рядом специальных особенностей. С другой стороны, это, очевидно, послужило углублению дальнейшего анализа различных явлений, происходящих с живыми организмами, а также углублению наших теоретических знаний в области этиологии заболеваний.

И следует указать, что весьма существенную роль в этом сыграли исследования гемоглобина человека и его аномальных вариантов.

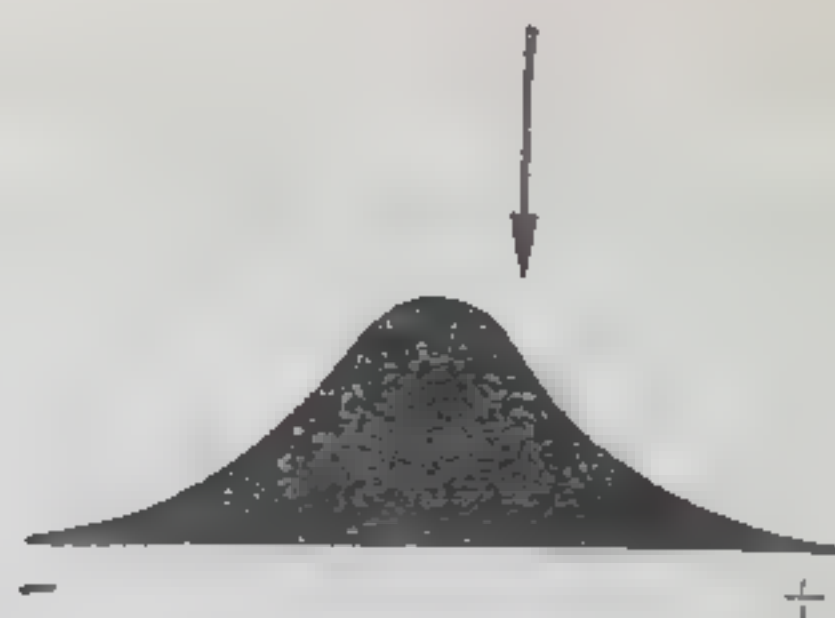
а. Обзор молекулярных болезней

Самой первой путеводной нитью на пути разгадки молекулярных болезней явилась гемолитическая анемия, носящая необычное название серповидноклеточной анемии и описанная в 1910 г. Herick. До недавнего времени в Японии были почти не знакомы с данным видом анемии, а в Европе и Америке это заболевание вызывало к себе интерес лишь как к варианту классической формы анемии. И все это одним разом было поставлено по своим местам благодаря достижениям Pauling с сотр. и Ingram.

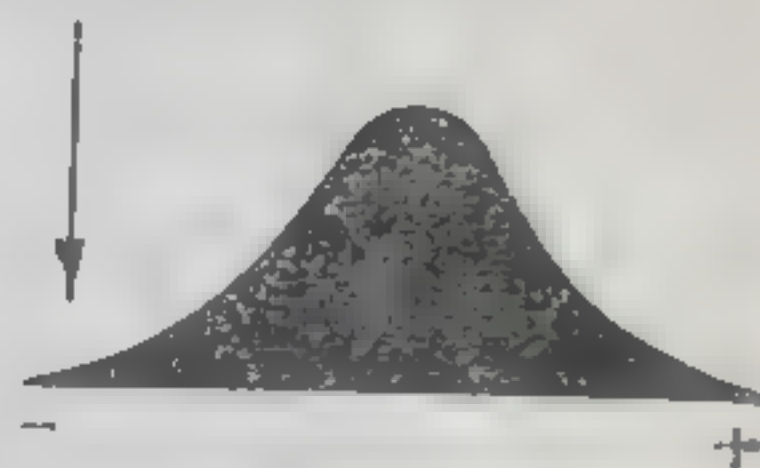
В 1949 г. Pauling с сотр., исследуя при помощи электрофореза по методу Тизелиуса гемоглобин крови, собранной у пациентов, страдающих этим видом анемии, убедились, что на электрофореграмме этот гемоглобин по сравнению с нормальным гемоглобином показывает сдвиг в сторону катода (рис. 1.6). Исходя из этого был сделан вывод, что такое характерное для данного вида анемии состояние пациента, вытекающее из наследственных дефектов, объясняется появлением каких-то существенных изменений в молекуле гемоглобина, поэтому заболевание и было названо молекулярным.

Как уже было указано выше, это явилось важнейшим открытием, которое впервые навело на мысль о том, что структура белков для всех живых организмов определяется в соответствии с генами. Однако в связи с недостатком конкретных фактов о структуре молекулы это сообщение в то время не вызвало достаточной заинтересованности. Впоследствии же, параллельно с развитием молекулярной биологии, а также вслед за тем, как Ingram в 1957 г. определил первичную структуру этого гемоглобина, теория

Нормальный гемоглобин
взрослого человека



Серповидноклеточная
эритроцитарная анемия
(гомозиготы)



Отличительные признаки
серповидноклеточных эритроцитов
(гетерозиготы)

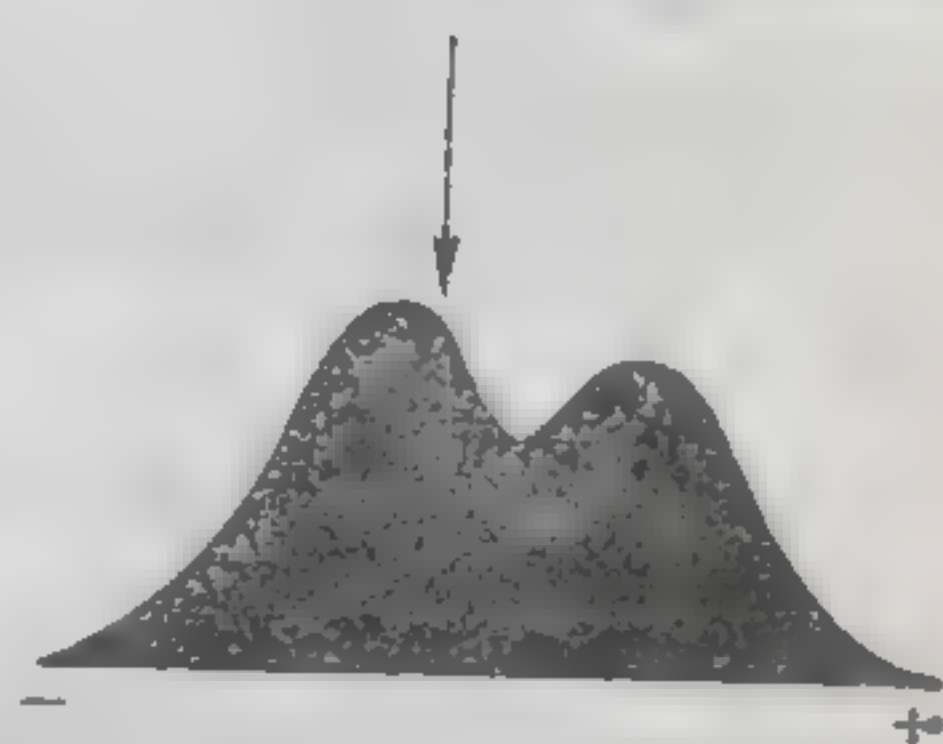


Рис. 1.6. Электрофореграмма гемоглобина при серповидноклеточной эритроцитарной анемии и отличительные признаки эритроцитов (Conloy, Smith, 1954).

Pauling с сотр. подверглась коренной переоценке, и данное предположение, как способное в принципе охватить этиологию всех заболеваний, стало оказывать свое огромное влияние не только на генетику, но и на медицинскую биологию в целом.

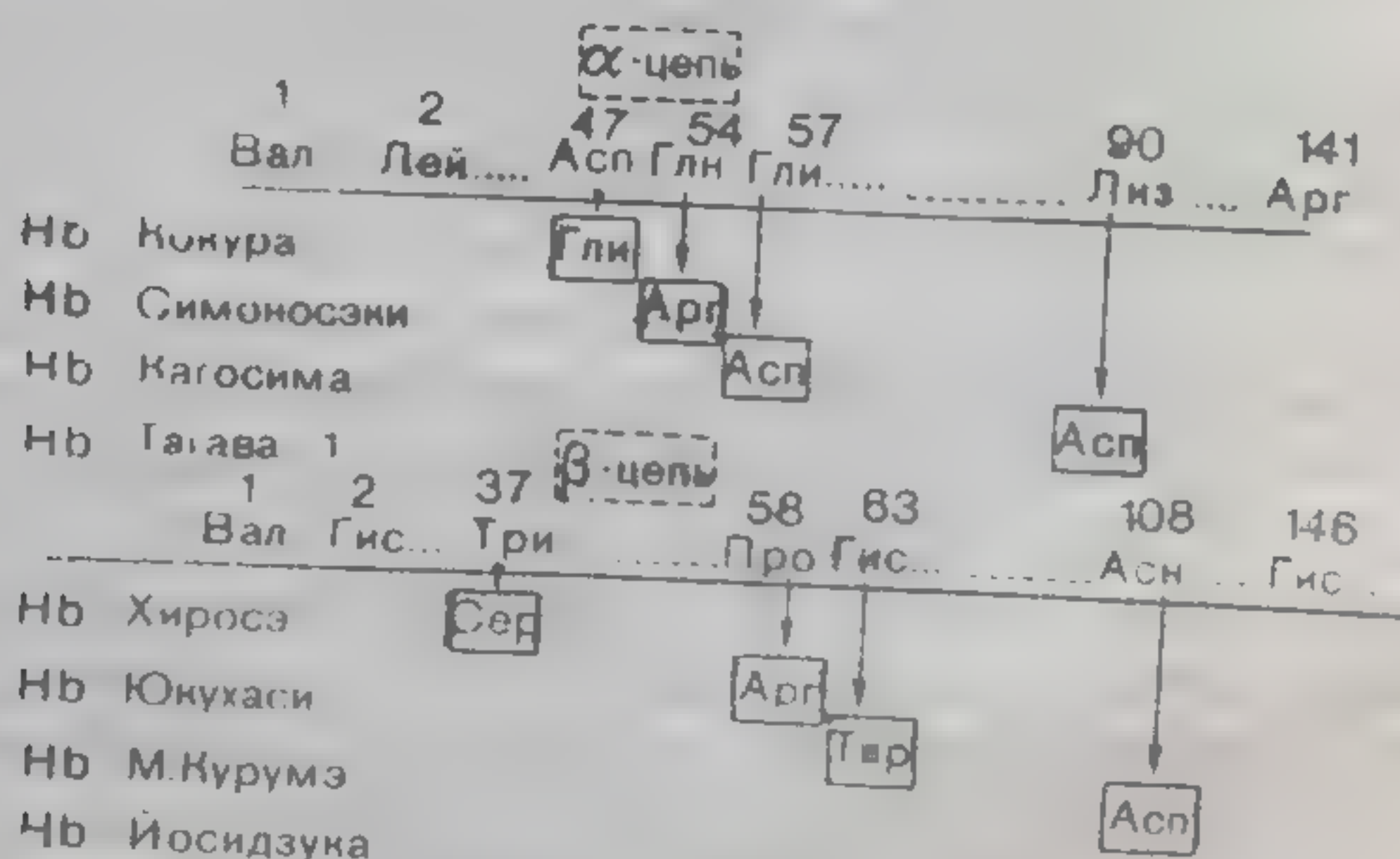


Рис. 1.7. Восемь видов первичных структурных изменений аномального гемоглобина (научно-исследовательская группа по изучению гемоглобина при I отделении терапии Университета Кюсю Дайгаку).

б. Мутации в структуре гемоглобина

Начиная с мая 1972 г. и вплоть до настоящего времени выявлено 140 с лишним видов мутаций в структуре человеческого гемоглобина. Однако большая часть этих мутаций (рис. 1.7), находясь в числе 141 аминокислоты, формирующей α -полипептидную цепь, или в числе 146 аминокислот, формирующих не- α -полипептидную цепь (β -, γ -или δ -цепи), как бы просто подставляют всего лишь один остаток радикала аминокислоты на место другой аминокислоты, что является чрезвычайно тонким изменением. Обычно эти изменения вызываются замещением единственной аминокислоты.

Кроме того, случается и так, что в одинаковых полипептидных цепях происходит замещение двух аминокислотных остатков [Hb C Harlem: $\beta 6$ (A3), Глу→Вал; $\beta 73$ (E7), Асп→Асн, в одной полипептидной цепи недостает от 1 до 5 аминокислотных остатков [Hb Freiburg: $\beta 23$ (B5), Вал→0 и др. 5 видов], в структуре аминокислотной цепи в составе α -цепи наблюдается избыток аминокислот, число аминокислот превышает 141 (т. е. число, составляющее постоянный состав Hb), в не- α -цепи формируются структуры соединенных пептидов типа сцепленных β -цепи и δ -цепи (Hb Lepore: $\alpha_2\delta\beta_2$ или Hb Miyada: $\alpha_2\delta\beta_2$ и пр.).

Очевидно, здесь может быть принято следующее истолкование: механизму возникновения структурных мутаций предшествует преобразование единичного основания на уровне полинуклеотидов ДНК, феномен кроссинговера и т. д. (для детального ознакомления см. работы Янагасаэ за 1970 и 1971 гг.).

в. Применение к человеку теории генетических информационных кодов

Как уже было описано выше, процессы транскрипции и трансляции генетической информации, установленные в основном для микроорганизмов, очевидно, могут оказаться применимыми и к таким высшим организмам, как человек.

Одним из методов, при помощи которого можно произвести детальный анализ аллельных признаков человека, является применение теории о триплетном коде. В качестве самых первых объектов для испытаний послужили

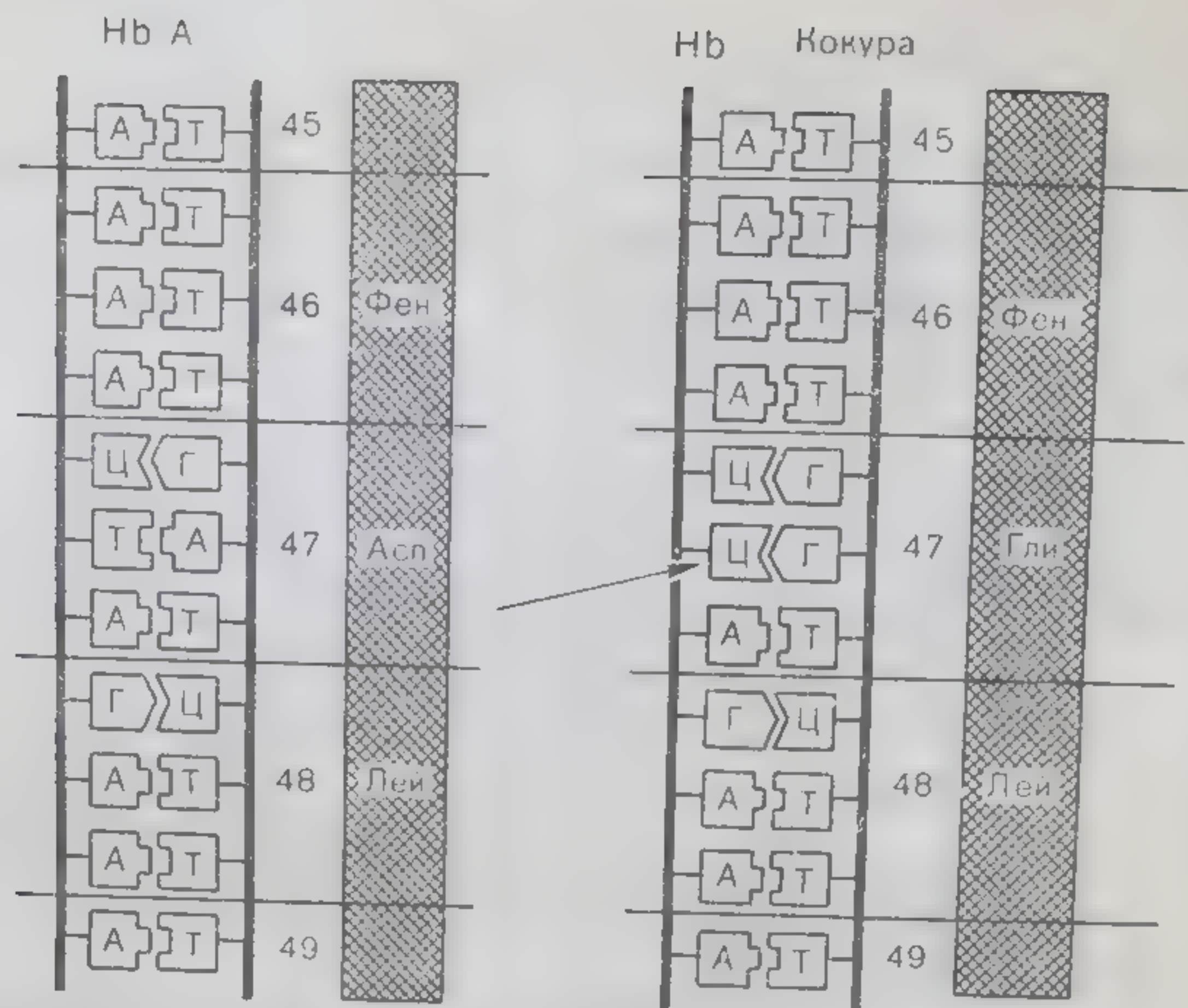


Рис. 1.8. Hb A (основные компоненты гемоглобина у нормального взрослого человека) и кодон ДНК Hb Kokuра (оригинальный рисунок автора).

нормальный гемоглобин человека, а также его структурные мутанты, причем сам по себе факт неожиданного пере-скака через класс млекопитающих имел огромное значение для человека.

Так или иначе попробуем исследовать этот момент, рассмотрев Hb Kokuра, который был аналогично определен ученым Ohya (1963).

Как это проиллюстрировано на рис. 1.8, если рассмотреть распределение аминокислот в α -цепи гемоглобина нормального взрослого человека, то считая с N-конца, аминокислотам под номерами 46, 47, 48 соответствуют фенил-аланин (Фен), аспарагин (Асп), лейцин (Лей). Между тем в первичной структуре Hb Kokuра только один участ-ок отличается от нормального. А именно: на месте 47-го номера, там, где должна быть аспарагиновая кислота, сто-ит глицин (Гли). В то же время, если взглянуть на табл. 1.1, то кодами, определяющими глицин, будут четы-ре следующих:

ЦЦТ ЦЦЦ ЦЦГ ЦЦА

С другой стороны, кодами, определяющими аспарагино-вую кислоту, будут два следующих:

ЦТГ ЦТА

Если сопоставить эти две серии кодов, то среди триплетов, определяющих аспарагиновую кислоту, Т, стоящий под вторым номером, подставлен вместо Ц, поэтому можно без противоречий объяснить механизм включения глицина. Иными словами, среди 423 оснований ДНК, определяющих α -цепь, одно основание специфически изменилось, что и вызвало появление Нв Кокуга. Это называется генной мутацией, или, еще в более узком значении, точечной мутацией.

Подобную мутацию, превращающую код, который определяет какую-либо отдельную аминокислоту, в код, соответствующий другой аминокислоте, называют миссенс-мутацией, а ту мутацию, которая превращает нуклеотидную последовательность в код, не соответствующий ни одной из аминокислот, называют нонсенс-мутацией.

Как это явствует из табл. 1.1, большинство аминокислот определяется не одним видом кода, а более чем двумя видами кодов. Это именуется вырождением кода. Так как, согласно наблюдениям, вырождение кода распространяется на довольно большое число аминокислот, то можно полагать, что чуть ли не все мутации должны быть не нонсенс-мутациями, а миссенс-мутациями.

Если, полагаясь на теорию о триплетном коде, допустить, что каждая из 20 видов аминокислот, подвергаясь одной точечной мутации, превращается в другой вид аминокислоты, то даже в пределах этого количества новых видов кислот будет минимум 5, а максимум 12 видов. Так, например, имеется вероятность замещения фенилаланина следующими 6 видами аминокислот:

Цис, Иле, Лей, Сер, Тир, Вал

Следовательно, получается, что, например, такое превращение, как Фен→Арг, немыслимо. Если же допустить мысль, что выявилась бы такая структурная мутация гемоглобина, то это явилось бы либо ошибкой структурного анализа, либо многоступенчатым изменением типа Фен→Цис→Арг, либо это означало бы, что теория о триплетном коде неприменима к человеку. Однако же коэффициент мутаций на человеческом локусе в среднем составляет $10^{-5} \sim 10^{-6}$, коэффициент двухступенчатых мутаций составляет $10^{-10} \sim 10^{-12}$, т. е. представляет собой крайне редкое явление. Следовательно, если предположить, что может быть обнаружена подстановка аминокислот, подоб-

ная Фен→Арг, то естественно, что справедливость структурного анализа вызвала бы сомнение.

В действительности считалось, что Hb I, который был открыт на сравнительно раннем этапе изучения аномального гемоглобина, имеет в своем составе в 16-й позиции α-цепи замещенный на аспарагиновую кислоту лизин. Однако если опираться на таблицу кодов, то среди мутаций 1-й ступени такого примера не существует. Согласно теории Crick (1967) (хотя в настоящее время еще строго не доказанной) это замещение является последовательным этапом превращения Лиз→Глн.

Если согласиться с этим и попробовать применить теорию триплетного кода к примерам замещения одной единственной аминокислоты, являющимся наиболее частыми среди 130 видов гемоглобинопатий, открытых во всех концах света, то в результате этого не выявится ни одного противоречивого примера. Значит, следует полагать, что код генетической информации, открытый у микроорганизмов, распространяется и на человека.

Попробуем изучить отдельно точечные мутации, а именно: направление превращений единственного основания равноправно с (1) пуриновым основанием (аденин и гуанин), которое принадлежит к одному и тому же виду, и, кроме того, с пиримидиновым основанием (тимин и цитозин), в случае совпадения превращений на равноправных интервалах (транзиция оснований) с (2) примером совпадения превращений между основаниями пурина и пиримидина, которые принадлежат к неодинаковым видам (трансверсия оснований).

Если предположить, что кодон, — который почти не имеет никакого значения в структурном гене α-цепи гемоглобина и структурном гене β-цепи гемоглобина, — изменяется и сделать расчет соотношений, которые могут произойти при транзициях оснований и трансверсиях оснований всех аминокислот, входящих в состав Hb, то в целом будут получены такие значения: около 31% придется на транзиции оснований и 69% — на трансверсии оснований. Между тем, если рассмотреть частоту транзиций оснований на примере замещения единственной аминокислоты из числа 126 видов, которая фактически выявлялась в человеческом гемоглобине, то она составит около 50% (см. табл. 1.3). Другими словами, если даже допустить, что для выявления структурных мутаций современными методами электрофореза имеется предел, то все же ожидаемый 31%

Трансверсия оснований	Г→Ц	3
	Ц→Г	3
	Г→Т	3
	Т→Г	3
	А→Г	2
	С→А	1
	А→Т	1
	Т→А	1
Итого		15
Прочее*		9
Всего		40

*За гипотезу принимается...

частотности транзиций...
причем со значительным...
возможность выявить, что...
встречается преобразование...
экспериментальных жив...
ются искусственно, трансп...
кой частотностью, и при...
преобладанием преобраз...
относительно преобраз...
органов, — нельзя н...
совершенно случайн...
единство мутаций...

Таблица 1.3

Превращение оснований на примере замещения 126 отдельных
аминокислот

(по состоянию на февраль 1971 г., Янагасэ, Ямаока)

Превращение оснований		Аномалии α-цепи	Аномалии β-цепи	Аномалии γ-цепи	Аномалии δ-цепи	Всего
Транзиция оснований	Ц → Т	7	20	3	1	31 (0,246)
	Т → Ц	5	11	2	1	19 (0,150)
	А → Г	1	6			7
	Г → А	3	3			6
Итого		16	40	5	2	63 (0,500)
Трансверсия оснований	Г → Ц	3	4			7
	Ц → Г	5	3			8
	Г → Т	3	3	1	1	8
	Т → Г		6			6
	А → С	2	4			6
	С → А	1				1
	А → Т		3			3
	Т → А	1	3			4
Итого		15	26	1	1	43 (0,341)
Прочее*		9	9		2	20 (0,159)
Всего		40	75	6	5	126

*За гипотезу принимается любое превращение оснований от 2 до 5.

частотности транзиций оснований фактически получен, причем со значительным превышением. К тому же есть возможность выяснить, что среди транзиций оснований чаще встречается преобразование Ц ↔ Т. В тех случаях, когда у экспериментальных живых организмов мутации вызываются искусственно, транзиции оснований отличаются высокой частотностью, и при этом почти всегда это совпадает с преобладанием преобразований Ц ↔ Т. Причем, — и это одинаково относится и к человеку, и к другим живым организмам, — нельзя сказать, что мутации происходят совершенно случайно, обычно обнаруживается, что большинство мутаций происходит с определенными тенденциями.

г. Структуры и функции

Наряду с выяснением, как это было описано выше, первичной структуры нормального и измененного гемоглобина появилось новое направление исследований, заключающееся в сопоставлении функции гемоглобина в первичной структуре или, еще и далее, и в высших структурах. Так как эти проблемы затрагивали сущность явлений, наблюдаемых в живых организмах, то за последние годы разрешению этих проблем в значительной мере содействовал прогресс в области химии белков и методов рентгеноструктурного анализа. В частности, исследование трехмерной структуры миоглобина и гемоглобина, проведенное Perutz и сотр. (1965—1967), содействовало построению весьма точной молекулярной модели этих хромопротеидов.

Таким образом, мутации, вызывающие изменения структуры и синтеза гемоглобина, которые являются естественным химическим преобразователем, благодаря возможности сопоставления функций гемоглобина с его структурой, начиная от первичной и до высшей четвертичной, могут быть использованы для распознавания этиологии заболеваний на так называемом молекулярном уровне. Надо полагать, что в этой области содержится множество важнейших ключей к разгадке этиологии других заболеваний с неясной сущностью.

За последние годы Perutz и Lehmann (1968), базируясь на знаниях, полученных о структурных мутациях гемоглобина, выдвинули новую отрасль науки, известную как молекулярная патология, которая, как следует ожидать, поставит своей целью разрешение затронутых выше проблем.

1) Высшие структуры гемоглобина

Если полагаться на исследования Perutz с сотр., то α -цепь и не- α -цепь фракции глобина в гемоглобине в основном имеют одинаковую трехмерную структуру, а именно: соответствующие полипептидные цепи местами (рис. 1.9) принимают структуру спирали правостороннего вращения, вытянутой по прямой (структура α -спирали). Конкретно этот сегмент представляет собой вытянутые по прямой спирали, в каждой из которых закручено по 3,6 остаточных радикала. Такой спиральный сегмент занимает около 75% всех аминокислот, а остальная часть сегмента имеет произвольно вытянутый неспиральный вид. Если



Рис. 1.9. Миоглобин в субъединице гемоглобина

теперь, объединив
ты одной буквой
двумя буквами, то
ветственно примет

и разделяется на 8
вых. Это называется
структурой.
Такая полипептид
раль, а в неспираль
резко в виде аминокис
между основными
ну, в которой и
говорить еще

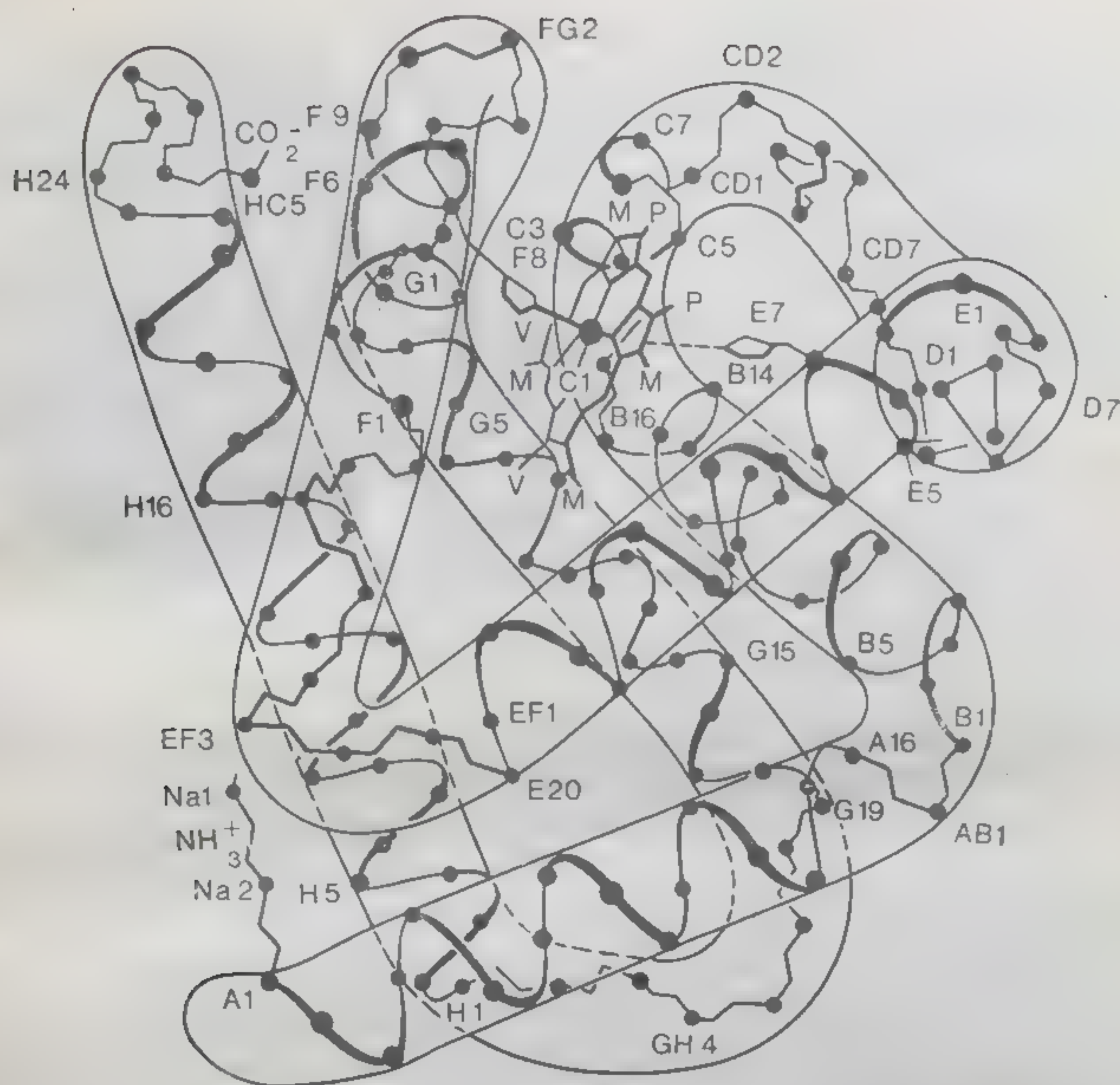


Рис. 1.9. Миоглобин кашалота. Вторичные и третичные структуры субъединиц (Dickerson, 1964). Гемоглобин человека в основном имеет аналогичную структуру.

теперь, объединив вместе, обозначить спиральные сегменты одной буквой латинского алфавита, а неспиральные — двумя буквами, то подгруппа при отсчете с N-конца соответственно примет последовательность:

NA, A, AB, B, C, CD, D,
E, EF, F, FG, G, GH, H, HC

и разделится на 8 спиральных сегментов и 7 неспиральных. Это называется вторичной структурой, которая составляет следующий порядок по сравнению с первичной структурой.

Такая полипептидная цепь, местами образующая спираль, а в неспиральном участке изгибающаяся еще более резко в виде японской буквы «ку» либо в виде буквы S, между основаниями некоторых изгибов формирует впадину, в которой и располагается гем (см. рис. 1.9). Если говорить еще конкретнее, то железо гема в основном хра-

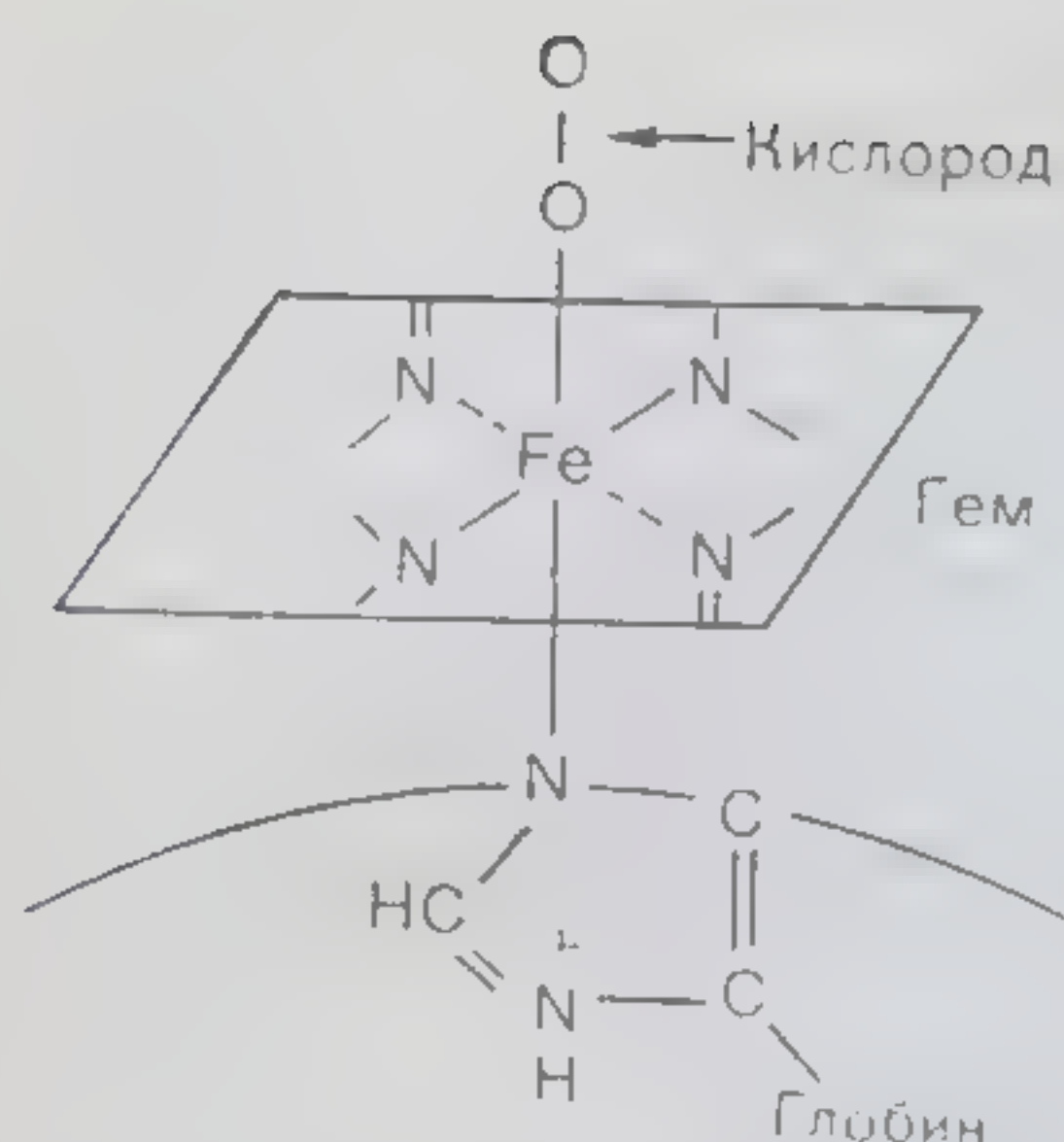


Рис. 1.10. Расположение гема.

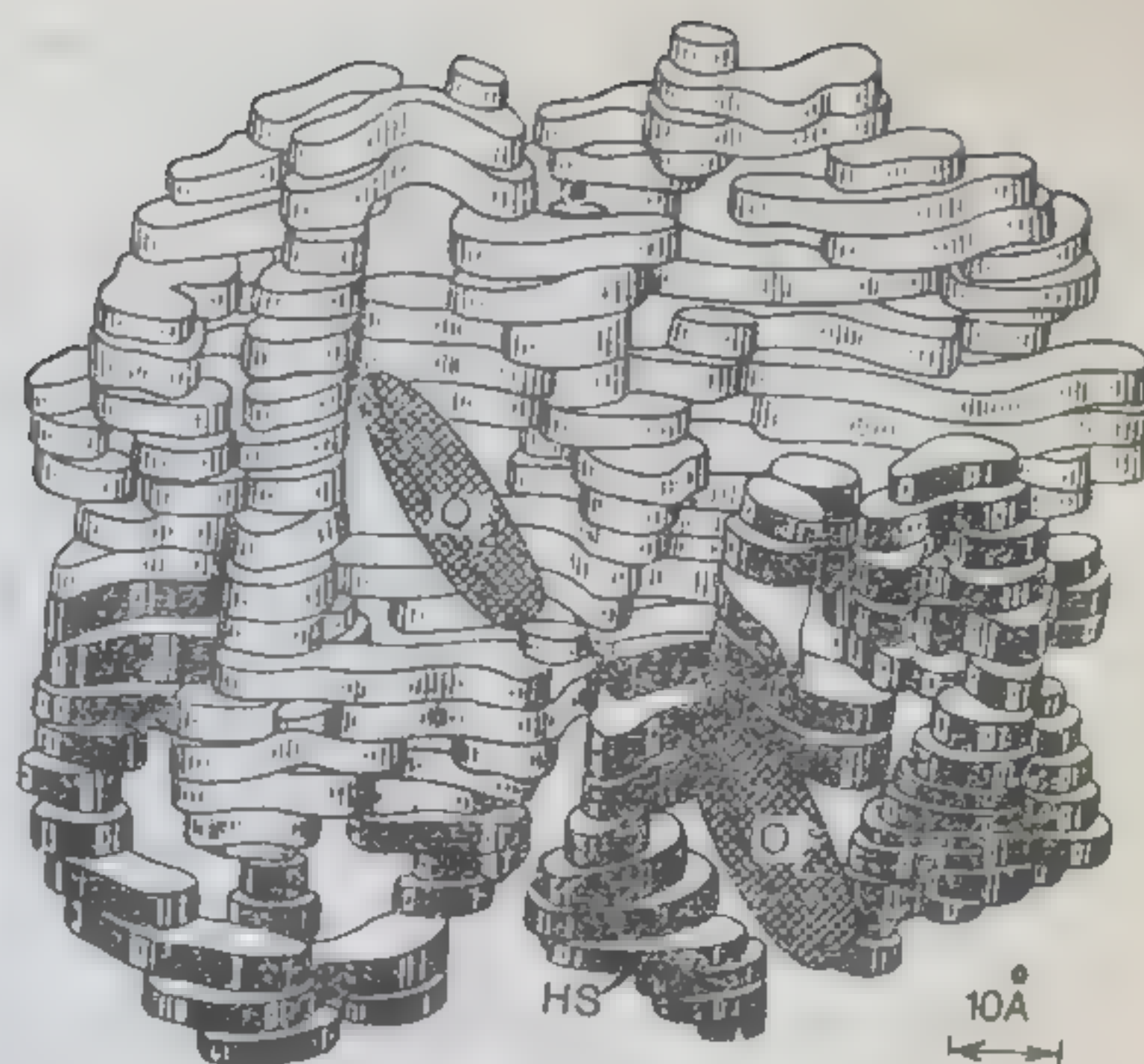


Рис. 1.11. Гемоглобин (четвертичная структура оксигемоглобина) (Hartman, 1965).

нится внутри расселины («гемовый карман», образованный незаряженными частицами), имеющей форму латинской буквы V, которая формируется спиралью E и спиралью F, причем около 60 атомов, участвующих в соединении гема и глобина, обеспечивают стабильность гема. Это называется третичной структурой.

Как это иллюстрируется рис. 1.10, гем имеет плоскую поверхность, в центре которой находятся атомы двухвалентного железа. Соединяясь, начиная с 1-й по 4-ю координационную позицию атома железа, с четырьмя атомами азота пиррольных ядер протопорфирина, гем, кроме того, в вертикальном направлении своей плоскости (называемом пятым и шестым лигандами) еще вступает в соединение с глобином и кислородом, а также другими лигандами.

Хотя соответствующая одному атому железа одна молекула кислорода вступает в обратимое соединение, в то же время железо сохраняет свое двухвалентное состояние. Поэтому данное явление в отличие от окисления называют оксигенацией. Железо, окисляясь по третьей валентности, превращает гемоглобин в метгемоглобин и утрачивает способность обратимого соединения с кислородом.

Четыре полипептидные цепи, сложенные, как выше описано, вдвое, принимают определенное пространственное положение в виде вершины правильного тетраэдра, причем все молекулы гемоглобина имеют пространственную струк-

туру, которая стабилизирована вращающимся эллипсоидом $64\text{\AA} \times 55\text{\AA} \times 50\text{\AA}$ (рис. 1.11). Это и называют четвертичной структурой. Молекулярный вес гемоглобина составляет 64458.

2) Область риска появления заболевания

Характерные функции гемоглобина, хотя они и зависят от такой пространственной структуры, сохраняют особенно важный смысл в следующих фракциях:

- (1) В соединении гема с глобином.
- (2) В соединении глобина с каждой подгруппой.
- (3) В соединении с каждой аминокислотой, расположенной внутри молекулы, имеющей почти сферическую форму.

Хотя это и называется внутримолекулярными соединениями, большинство из них является неполярными, благодаря чему гемоглобин стабилизирован, и именно это препятствует проникновению воды внутрь молекулы со стороны окружающих гем границ, защищая его тем самым от окисления; кроме того, это облегчает соединение с кислородом. Следовательно, можно построить предположение, что в случае захвата полярных остатков внутри молекулы, происходящего из-за замещения аминокислот, высшие структуры не стабилизируются.

В противоположность внутренней части молекулы на ее поверхности, наоборот, многочисленные полярные остатки выходят наружу и вступают в контакт с молекулами воды. Кроме того, во внутренней части молекулы вдоль осей двойной симметрии имеются продолговатые полости, образованные четырьмя субъединицами. Если приблизительно изобразить эти полости в виде двух коробочек 20\AA ($8\text{\AA} - 10\text{\AA}$) $\times 25\text{\AA}$, то, рассуждая с точки зрения общей величины молекулы гемоглобина, количество воды, которое может проникать в ту и обратную сторону, довольно велико. На этой внутренней стороне распределены полярные остатки — аргинин, лизин, треонин и др.

Если, полагаясь на теорию Perutz, принять одну из α -цепей за α_1 , а атом железа, соединенный с этой α_1 , принять за эталон и обозначить β -цепь, которая находится на большом расстоянии от каждого атома железа, через β_1 , а малую β -цепь принять за β_2 , то соединения α -цепи и β -цепи будут иметь два вида: $\alpha_1 - \beta_1$ и $\alpha_1 - \beta_2$. Соответственно и контакты будут называться контактами $\alpha_1 - \beta_1$ и $\alpha_1 - \beta_2$ (рис. 1.12). Хотя в соединения между одноименны-

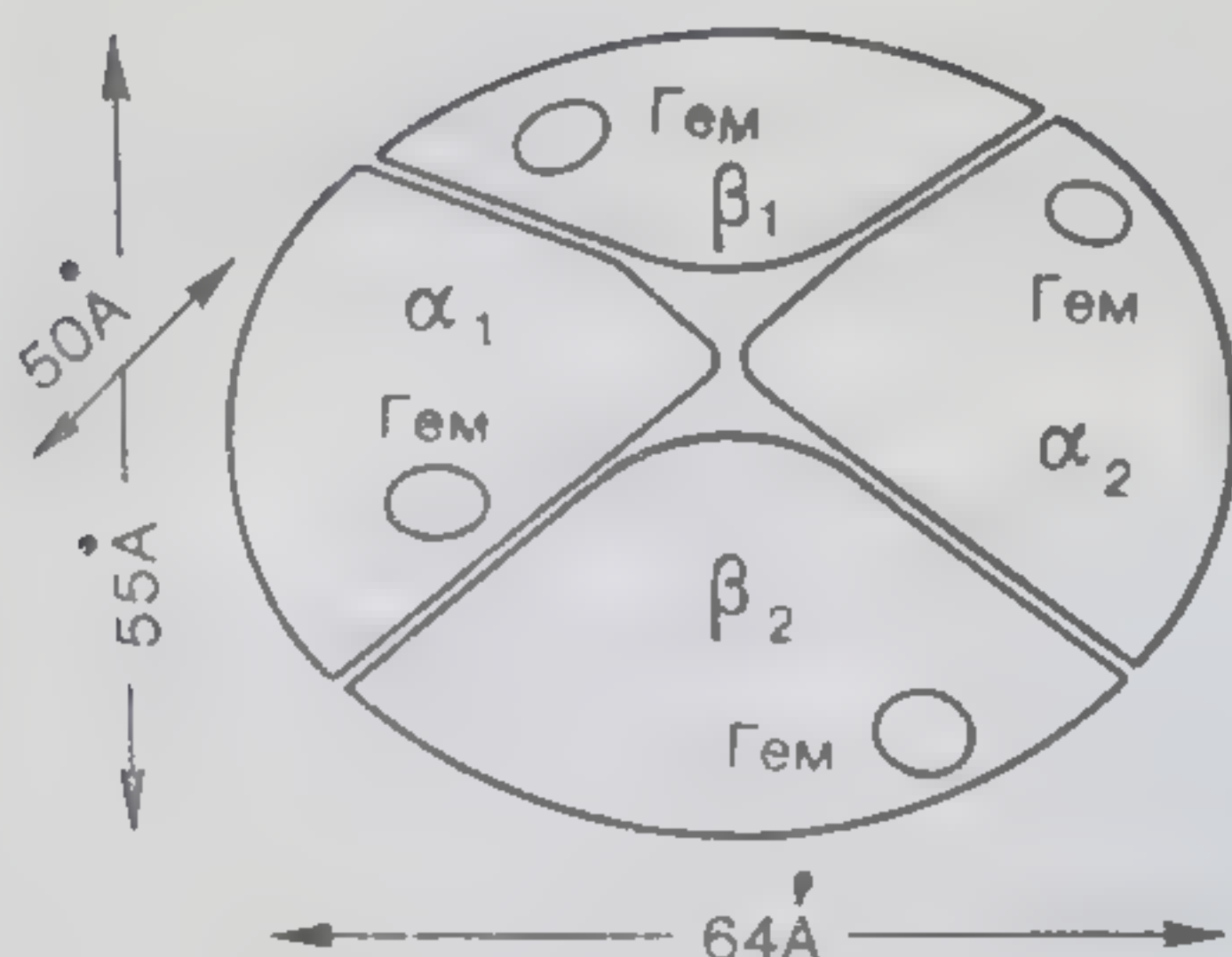


Рис. 1.12.
Взаимозависимость между
субъединицами гемоглобина.

ми цепями α — α , β — β еще пока не была внесена полная ясность, следует предположить, что число этих связей невелико.

Как это иллюстрируется на рис. 1.13, контакт α_1 — β_1 распространяется на самый обширный радиус действия, начиная с G 10 до H 9, причем в нем участвует 34 аминокислотных остатка и почти все они являются неполярными. С одной стороны, к контакту α_1 — β_2 , как это иллюстрируется на рис. 1.14, причастны 19 аминокислотных остатков, причем за исключением двух водородных связей, которые являются промежуточными соединениями [α 94 (G 1), Асп] — [β 102 (G 4), Асп] и [α 41 (С 6), Тре] — [β 97 (FG 4), Гис], все соединения неполярны.

В случае соединения кислорода с гемом субъединиц α и β их высшие структуры сами по себе почти не изменяются, в то время как позиционные взаимосвязи между субъединицами изменяются довольно значительно. А именно: в состоянии окисления (по сравнению с типом восстановительного гемоглобина) расстояние между цепями β сокращается приблизительно на 7 Å, причем на границах α_1 — β_1 возникает отклонение на 1 Å, а на границах α_1 — β_2 почти на 6 Å. Исходя из этого, следует предположить, что с молекулой гемоглобина постепенно происходят трехмерные изменения вследствие дыхательного движения. Имай высказал мысль, что молекула гемоглобина сама по себе при вступлении в реакцию с кислородом «дышит», а именно: имеется вероятность того, что одновременно с трехмерными изменениями вещества с низким молекулярным весом находящиеся во внутренней полости молекулы перемещаются в возвратно-поступательном направлении. Однако если рассматривать гемоглобин с точки зрения тонкого молекулярного механизма, то становится понятным, что существует достаточно сложная структура.

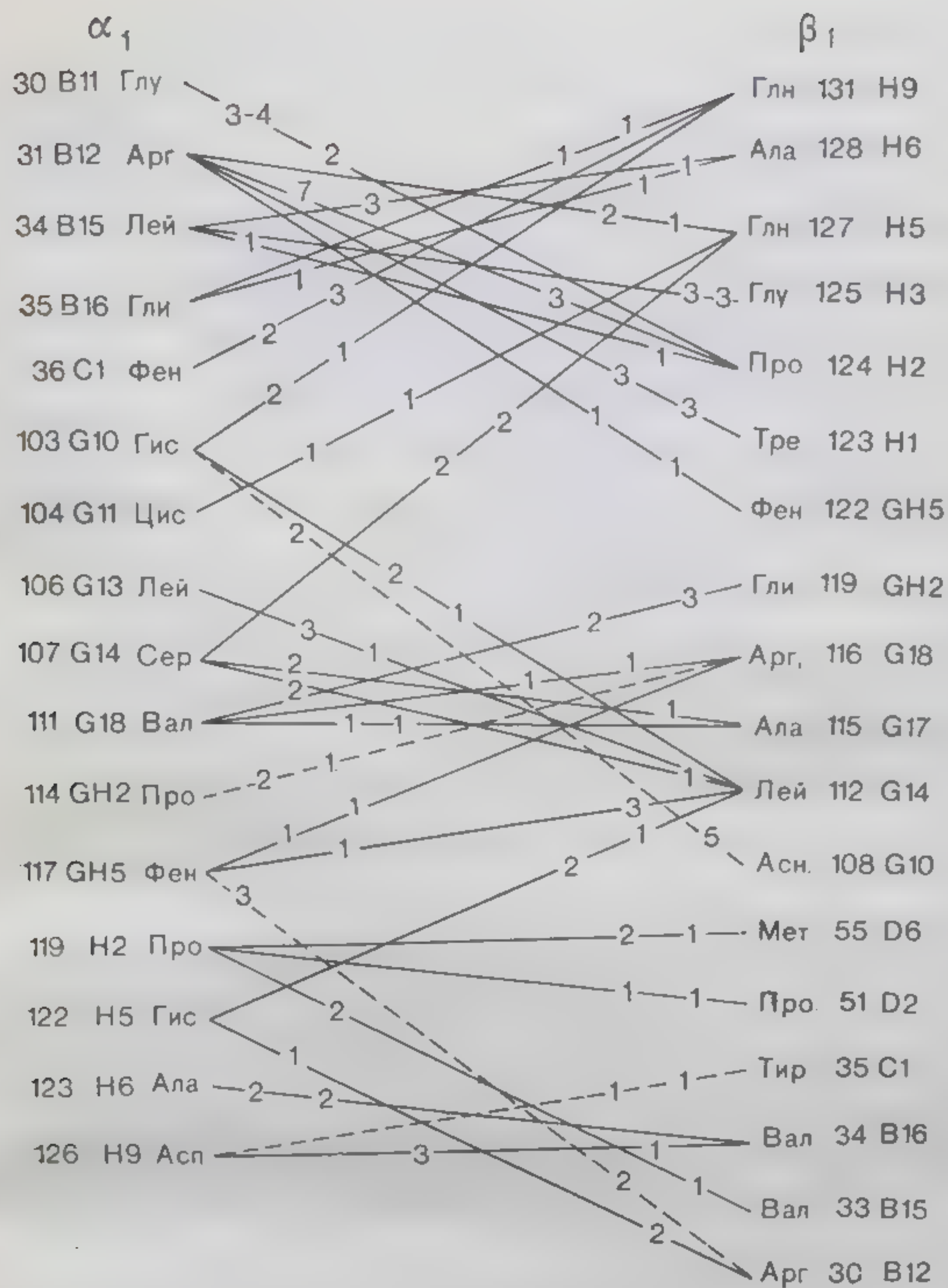


Рис. 1.13. Взаимодействие между α_1 — β_1 (Perutz, 1969).

В настоящее время можно в общем классифицировать мутанты, обнаруживающие специфические симптомы заболеваний, которые связаны со структурными изменениями гемоглобина, на четыре следующих:

- (1) Агрегированные гемоглобины.
- (2) Гемоглобины с аномальными функциями гема.
- (3) Нестабильные гемоглобины.
- (4) Гемоглобины, связанные с полицитемическим синдромом.

Привлекает к себе внимание тот факт, что, за исключением нескольких примеров, большая часть этих аномальных гемоглобинов является результатом замещения аминокислот, которые распределяются в описанных сферах риска. Хотя в последующих главах будет вновь даваться обзор

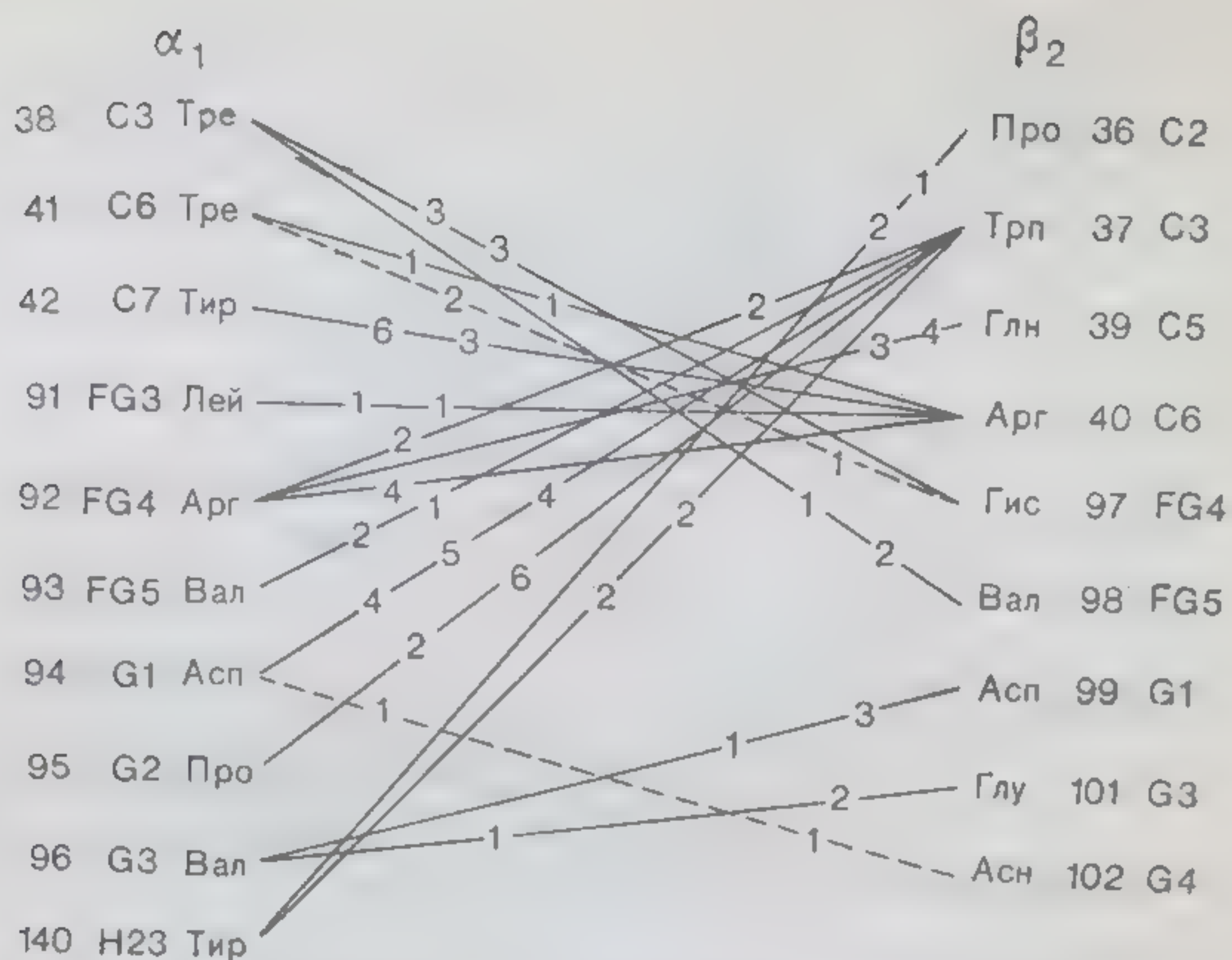


Рис. 1.14. Взаимодействие между α_1 — β_2 (Perutz).

случаев молекулярного проявления таких специфических симптомов вместе с объяснением их деталей, появилась дополнительная возможность пролить свет на каждую ■ отдельности функцию аминокислот, формирующих структуру глобина. Кроме того, на основе сравнительной биохимии гемоглобина различных животных научные изыскания, посвященные механизму молекулярной эволюции, постепенно приобретают все более широкое развитие.

д. Нарушение баланса ■ синтезе гемоглобинов

Вышеописанное представляет собой аномальный гемоглобин, измененный в самой структуре молекулы. Однако, помимо этого, еще существуют группы аномального гемоглобина, дефекты которого вызваны нарушением баланса в синтезе между каждой из субъединиц глобина. Такое нарушение баланса в синтезе происходит всего лишь ■ результате помехи ■ синтезе определенной полипептидной цепи, ибо каким бы общеизвестным химическим способом мы ни воспользовались, изменения в структуре происходят по одним и тем же правилам. Это ■ целом называется симптомами талассемии, но, кроме того, существуют еще гемоглобинопатии специфического типа, носящие название наследственной персистенции фетального гемоглобина.

Хотя в результате многочисленных научных экспериментов выяснилось, что при талассемии, как это описано выше, подавляется синтез определенной полипептидной цепи, в качестве причинных факторов этого явления можно выдвинуть несколько различных теоретических взглядов: (1) количество вырабатываемых мРНК слишком малочисленно или нестабильно, (2) низкая способность формирования полипептидных цепей на уровне рибосом, (3) дефекты в процессе формирования высших структур гемоглобина, (4) нарушения в процессе формирования димера, (5) дефекты в процессе завершения формирования молекулы гемоглобина из субъединиц димера. Однако все еще проблемным остается такой момент: можно ли при этом целиком отрицать возможность замещения аминокислот?

В качестве генетических обоснований для этого явления выдвигаются различные теории, такие, как теория о нонсенс-мутациях, теория о кратности генов, теория о кроссинговере, теория о ненормальных мутациях и пр. Однако нужно отметить, что, руководствуясь лишь одним таким анализом механизма формирования гемоглобина, внести ясность в вопрос довольно трудно. И тем не менее, когда Ingram и Stretton (1959) выдвинули новую теорию о генах-терминаторах, то, используя этот случай, начали рассматривать теорию о мутации оперона (Neel, 1961; Motulsky, 1962; Sturgeon et al., 1963; Zuckerkandl, 1964).

Было бы совершенно неоправданным применять эту теорию к талассемии в целом, и хотя это все еще продолжает служить одним из обоснований для данной группы симптомов и одновременно позволяет не отказываться от описанной выше теории аминокислотных замен, все-таки в случае наследственной персистенции фетального гемоглобина, как это кажется на первый взгляд, имеется возможность интерпретировать данное заболевание, опираясь на эти основания. Ниже будет дано краткое пояснение.

Теория мутации оперона

Хотя уже фактически подтверждено, что структурные гены β -цепи и δ -цепи образуют на поверхности пары гомологичных хромосом цепь, можно построить предположение, что они, как это иллюстрируется на рис. 1.15, также формируют оператор (O_1), еще один ген-регулятор RG_2 и одну функциональную единицу.

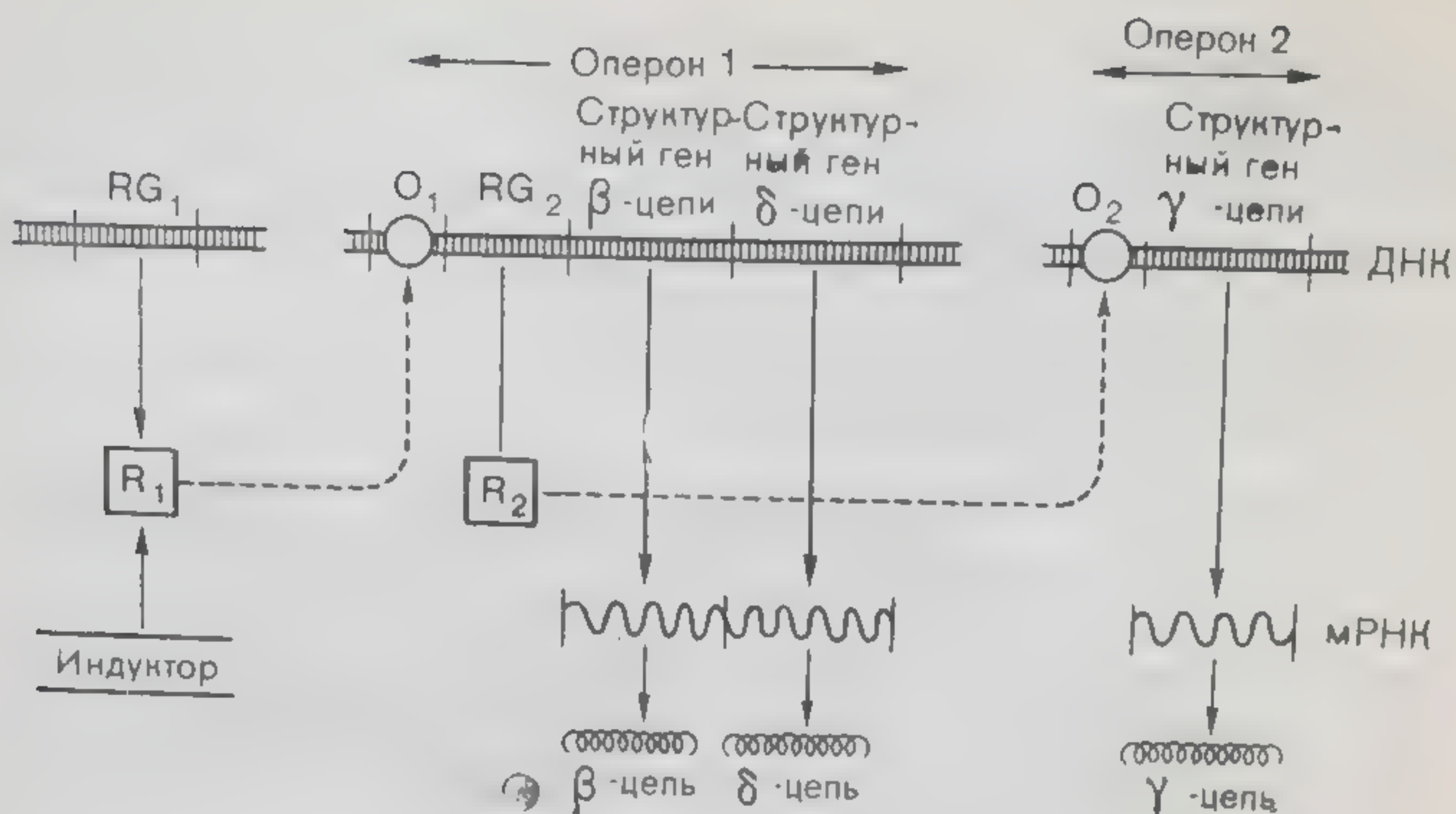


Рис. 1.15. Механизм, предшествующий формированию заболевания наследственной персистенции фетального гемоглобина, на примере данных, полученных с мутантным штаммом кишечной палочки O^c .

В определенный период беременности ген-регулятор RG_1 , оказывая воздействие на оператор O_1 , через репрессор R_1 , подавляет синтез β - и δ -цепей. Ген-регулятор RG_2 , подчиняясь оперону 1, действует лишь только как ограничитель функций оператора O_1 . Поэтому подавляется образование репрессора R_2 . Следовательно, оператор O_2 , формирующий еще одну функциональную единицу — оперон 2, не подчиняясь контролю R_2 , интенсивно осуществляет формирование γ -цепи, используя работу структурного гена γ -цепи.

С другой стороны, оперон, относящийся к синтезу α -цепи и работающий независимо, полностью осуществляет синтез α -цепи. Во время беременности, начиная с последнего ее этапа, вместе с перестройкой на сроки созревания образуется индуктор I_1 , который притормаживает действие репрессора R_1 , причем, соединяясь с R_1 , он постепенно принимает на себя контроль над O_1 , а оператор O_1 , включаясь в действие, способствует ускорению синтеза β - и δ -цепей. Одновременно и R_2 начинает функционировать. Репрессор R_2 , затормаживая действие O_2 , постепенно снижает синтез γ -цепи.

Предполагается, что при наследственной персистенции фетального гемоглобина в структуре гемоглобина, начиная с последних сроков беременности и кончая первыми месяцами жизни новорожденного, на этапах переключения с

фетального гемоглобина (Hb F) на гемоглобин взрослого человека (Hb A, Hb A₂) возникают дефекты. При одном из типов этого заболевания, так называемом африканском типе, в общем гемоглобине содержится до 20—30% Hb F, который у взрослого человека должен содержаться в минимальных количествах, и соответственно занижено содержание Hb A и Hb A₂. Рассматривая это с точки зрения вышеупомянутой структуры переключения в синтезе нормального гемоглобина, при фетальной гемоглобинопатии в результате мутации, вызванной опероном O₁, можно найти объяснение этому явлению в потере чувствительности к репрессору R₁.

Заключение

Выше был сделан общий обзор научных исследований по изучению биохимических мутаций человека. Однако всем известно, что в течение каких-нибудь 20 с лишним последних лет эти знания подвергались стремительному прогрессу, и исследования человека, ранее стоявшие в одном ряду с исследованиями других подопытных живых организмов, обособились, вплоть до того, что сформировался самостоятельный раздел науки — биохимическая генетика человека.

С другой стороны, наши познания о наследственности постепенно проникают в область практической медицины. По мере того как проясняются структуры формирования различных биохимических мутаций, эти данные постоянно используются в качестве важнейшего фундаментального материала для распознавания особенностей патологии других заболеваний. Кроме того, открытие носителя рецессивного аллеля, сделанное благодаря применению современных научных принципов и техники эксперимента, открыло перспективу для предупреждения наследственных заболеваний, а также в известной мере и для лечения благодаря их своевременному диагностированию *in vitro* и в период внутриутробного развития, что было ранее почти недоступным.

Если такой научный подход пойдет по пути дальнейшего развития, то вполне возможно, что эуфеника (Lederberg, 1963) [Под эуфеникой понимают улучшение набора фенотипов — генетически обусловленных признаков как совокупного воздействия многих локусов] вместе с генной инженерией

перей (Tatum, 1965) и другими теориями, сравнительно недалеко отстоящими от тех, которыми мы располагаем сегодня, найдут себе практическое применение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Antonini E. a. M. Brunori 1971 Hemoglobin and Myoglobin in Their Reactions with Ligands. 436, North-Holland Pub. Co. — Amsterdam, London.
- Beadle G. W. a. T. L. Tatum 1941 Genetic control of biochemical reactions in neurospora.—Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A. 27: 499—506.
- Crick F. H. C. 1967 The genetic code. Proc. Roy. Soc. B. 167:331.
- Dickerson R. E. 1964 In: The proteins. Academic Press. — New York.
- Fallon H. J., L. H. Smith, J. B. Graham a. C. H. Burnett 1964 A genetic study of hereditary orotic aciduria. — New Engl. J. Med. 270:878.
- Garrod A. E. 1902 The incidence of alkaptonuria: ■ study in chemical individuality. — Lancet 11:1616.
- Garrod A. E. 1908 Inborn errors of metabolism (Croonian Lectures). — Lancet 11: 1, 73, 142, 214.
- Harris H. 1970 The Principles of Human Biochemical Genetics. 328, North-Holland Pub. Co., Amsterdam, London.
- Hartman P. E. a. S. R. Suskind 1965 Gene Action. — Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs (New Jersey).
- Имаи Киёхиро 1969 Способность аномального гемоглобина к соединению с кислородом. — Метаболизм. 6:798.
- Ingram V. M. 1957 Gene mutations in human hemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. — Nature 180:326.
- Ingram V. M. a. A. O. W. Stretton 1959 Genetic basis of the thalassemia diseases. — Nature, London 184:903.
- Jacob F. a. J. Monod 1961 Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins. — J. Mol. Biol. 3:318.
- Kalow W. a. K. Genest 1957 A method for the detection of atypical forms of human serum cholinesterase. Determination of dibucaine numbers. — Can. J. Biochem. Physiol. 35:339.
- Комитет по изданию произведений, посвященных Менделю. 1967 г. Ход развития генетики — 100-летний юбилей со дня открытия Менделем генетических законов. — 428, Сёкабо, Токио.
- Motulsky A. G. 1962 Controller genes in synthesis of human haemoglobin. — Nature, London 194:607.
- Motulsky A. G. 1964 Pharmacogenetics. In: Progress in Medical Genetics (A. G. Steinberg and A. G. B. Bearn, eds.) V. 3, 49—74, Grune & Stratton. — New York, London.
- Neel J. V. 1961 The hemoglobin gene: a remarkable example of the clustering of related functions on a single mammalian chromosome. — Blood 18:769.
- Nierenberg M. W., O. W. Jones, P. Leder, B. F. C. Clark, W. S. Sly a. S. Pestka 1963 On the coding of genetic information. — Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 28:549.
- Ohya I. 1963 Abnormal hemoglobins in North-Kyushu, Japan, with special reference to Hb-Kokura and Hb-Fukuoka — Jap. J. Hum. Genet. 8:23—38.

- Pauling L., H. A. Itano, S. J. Singer a. I. C. Wells 1949 Sick cell anaemia, a molecular disease. — Science 110: 543.
- Perutz M. F. a. H. Lehmann 1968 Molecular pathology of human hemoglobin. — Nature 219: 902.
- Perutz M. F. 1969 The hemoglobin molecule. — Proc. Roy. Soc. B. 173: 113.
- Stanbury J. B., J. B. Wyngaarden a. D. S. Fredrickson 1966 The Metabolic Basis of Inherited Disease. 1434, McGraw-Hill Book Co., New York.
- Sunahara S. et al. 1963 Genetical aspect of isoniazid metabolism. — Jap. J. Hum. Genet. 8: 93.
- Tatum E. L. 1959 A case history in biological research. Science 129: 1711.
- Watson J. D. 1965 Molecular Biology of the Gene. 494, W. A. Benjamin, Inc., New York.
- Weatherall D. J. 1967 The Thalassemias. In: Progress in Medical Genetics (Steinberg, A. G. and A. G. B. Bearn, eds.). V. 5, 8, Grune & Stratton — New York, London.
- Williams R. T. 1951 Biochemical Institute Studies IV. Individual metabolic patterns and human disease: an exploratory study utilizing predominantly paper chromatographic methods. — Univ. of Texas Publ. No. 5109: 7—21, Texas.
- Янагаса Тосиюки 1970 Генетика внутренних заболеваний — генетический анализ заболеваемости. Нитинаи таккайси 59:917.
- Янагаса Тосиюки 1971 Основы медицинской генетики. Молекулярное заболевание. Его виды 1—6. Сого ринсё. 20:1271—1277, 1579—1586, 1826—1829, 1998—2004, 2332—2327, 2964—2976.
- Zuckerkandle E. 1964 Controller-gene disease: the operon model as applied to β -thalassemia, familial fetal hemoglobinaemia and the normal switch from the production of fetal hemoglobin to that of adult hemoglobin — J. Mol. Biol. 8: 128.

Глава II

ПОЛИМОРФНЫЕ ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ

(главным образом о гаптоглобине)

Благодаря стремительному прогрессу, достигнутому за последние 10 с лишним лет в сфере биохимии и молекулярной биологии, стало очевидным, что в многочисленных ферментах и белках, содержащихся в организме человека, происходят структурные мутации. Более того, благодаря развитию научно-исследовательской работы по изучению других белков в составе гемоглобина, выявилось, что у человека существует прямое соответствие между генами и отличительными признаками. В результате появилась возможность анализировать взаимосвязи между структурой и функцией на молекулярном уровне. Однако с тех пор, как была введена в употребление данная методика, миновал совсем еще короткий срок, поэтому в области научных изысканий о генных мутациях до настоящего времени, исключая одну лишь область белков, еще не проявилась даже их первичная структура.

С другой стороны, используя генные мутации в качестве метода научного поиска, что имеет преимущества по своим аналитическим возможностям, и кроме того, применяя методы электрофореза, позволяющего одновременно и сравнительно легко подвергать анализу большое количество проб, в особенности электрофореза в крахмальном геле, а также иммуноэлектрофореза, исследователи получили дополнительную возможность широко выявлять мутантные белки.

Таким образом стали выявляться многие структурные мутации. В том числе доступными для обнаружения стали и те из них, которые встречаются в популяциях с высокой частотой. Согласно опубликованным данным, до недавнего времени насчитывалось около 30 видов таких полиморфных признаков. А если полагаться на исследования Haggis с группой сотрудников, то можно строить предположение, что и у человека почти в $\frac{1}{4}$ части всех генных

локусов, в которых распределены ферментные белки, имеет место полиморфизм.

Следовательно, полиморфизм можно назвать важнейшим из неразрешенных вопросов, который не только служит объектом интереса для популяционной генетики, антропологии и других наук, но интересен и для таких областей, как медицина и молекулярная биология — в плане разъяснения на молекулярном уровне индивидуальных различий в организме человека, а также этиологии различных заболеваний.

Ниже будет сделана попытка обобщенно рассмотреть существующую доньше информацию о характерных полиморфных признаках, а также будут приведены опытные данные автора о гаптоглобине. Что касается прочих биохимических полиморфных признаков, то по этому поводу имеются замечательные общие сводки, принадлежащие Giblett (1969) и Harris (1970), поэтому автор отсылает к ним читателя.

2.1. ПОЛИМОРФНЫЕ ПРИЗНАКИ

Отмечено, что в ходе генных мутаций внутри популяций довольно часто одновременно сосуществует целый ряд аллельных признаков. Согласно определению, данному Ford, полиморфизм — это: «Феномен сосуществования среди одного и того же вида, проживающего на одной и той же территории, двух или более дискретных мутаций, определяемых более чем двумя видами аллельных генов с сохранением такой частоты, при которой мутации поддерживаются не только за счет повторных мутаций».

Из этого следует, что при редких наследственных заболеваниях частота определенных мутантных типов исключительно низка, а те случаи, когда они сохраняются за счет уравнивания повторными мутациями и давлением естественного отбора, не рассматриваются как полиморфизм. По-видимому, обычное распределение мутантных генов внутри популяции с частотой по меньшей мере от 1 до 2% обуславливается полиморфизмом.

Хорошо известные группы крови типа ABO и MNS, белки плазмы крови, такие, как гаптоглобин, групповой специфический компонент, эритроцитарный фермент фосфо-глюкомутаза и пр., являются типичными полиморфными признаками. Из этого числа любые 2 или 3 фенотипа рас-

пределены в большинстве популяций с довольно высокой степенью частоты.

С одной стороны, ген Hb S встречается в ограниченной части Средней Африки более чем в 20%, а ген Hb E, распространяясь на широкую зону Юго-Восточной Азии, отличается довольно высокой степенью частоты распространения, в то время как в других районах эти гены почти не распространены. Мутантные гены Gd^{A+} и Gd^{A-} эритроцитарной глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в большинстве районов встречаются либо очень редко, либо совсем не встречаются, хотя в некоторых африканских популяциях они распределены более чем в 20%. Подобная возможность увидеть локально явление полиморфизма появилась благодаря определению биохимических признаков.

2.2. ЧАСТОТА ПОЛИМОРФИЗМА

Ограничивается ли такое явление полиморфизма особыми биохимическими признаками, не проявляя себя явно в других отношениях, или вместе с тем это явление широко распространяется также на другие белки и ферменты? В организме человека имеются разнообразные ферменты и функциональные белки, важные для его роста и сохранения жизнеспособности, а число генных локусов, определяющих особенности этих структур и их биосинтез, как считают, превышает не только 10 000, но и 100 000.

В связи с этим проблемный характер приобрели следующие вопросы.

При каких соотношениях формируется феномен полиморфизма? Наблюдается ли, что это явление тяготеет к определенному пути метаболизма? И кроме того, в какой мере несоответствие молекулярных структур может сказываться на физиологических функциях если не белков как таковых, то ферментов?

Учитывая эти и прочие вопросы, Harris с сотр. провели систематическое исследование ферментных белков с целью выяснения описанных выше моментов, в конечном счете это навело их на мысль, что наблюдаемый у человека феномен полиморфизма связан с довольно значительным числом генных локусов (Harris, 1966, 1969).

Во избежание привязки к определенному пути метаболизма было избрано 20 разных видов исследуемых ферментов. В качестве наиболее доступных для анализа проб

Ферменты, обнаруживающие

Ферменты

Эритроцитарная кислая
фосфатаза
Фосфоглюкомутаза
FGM₁
FGM₂
Аденолаткиназа
Пептидаза А
Пептидаза В
Аденозиндезаминидаза

Табл. 2.1 представ
аулятов этих исслед
В некоторых популя
условно были приня
обнаруживались два
полиморфизмом. Бы
генных локусов, об
верждают, достигае
у европейцев, так и
но: в локусах PGM
фатазы, фосфоглюк
аминазы, в общей с
того, аденилаткина
у европейцев, а п
хотя из привер

были использованы эритроцитарные и плацентарные ферменты, а в методике исследования мутаций был использован метод электрофореза в крахмальном геле как обладающий наиболее высокой степенью точности анализа. Были обследованы сотни и тысячи европейцев и африканцев, причем выбирались они произвольно, и как только обнаруживалась какая-либо мутация, проводилось обследование семей. В результате было установлено, что эти мутации носят наследственный характер.

Т а б л и ц а 2.1

Ферменты, обнаруживающие полиморфизм, и их генная частота
(Harris, 1970)

Ферменты	Европейцы			Африканцы		
	генные локусы			генные локусы		
	1	2	3	1	2	3
Эритроцитарная кислая фосфатаза	0,36	0,60	0,04	0,17	0,83	—
Фосфоглюкомутаза	0,77	0,23	—	0,79	0,21	—
ФГМ ₁	0,74	0,26	—	0,37	0,63	—
ФГМ ₃	0,95	0,05	—	1,00	—	—
Аденилаткиназа	1,00	—	—	0,90	0,10	—
Пептидаза А	0,99	0,01	—	0,95	0,03	0,02
Пептидаза D	0,94	0,06	—	0,97	0,03	—
Аденозиндезаминаза						

Табл. 2.1 представляет собой обобщенные выводы результатов этих исследований.

В некоторых популяциях и районах они для удобства условно были приняты за величину не более 0,01, а когда обнаруживались два фенотипа или более, то их считали полиморфизмом. Было отмечено, что в 20 видах ферментов мутации большей частью дискретные, однако число генных локусов, обнаруживающих полиморфизм, как утверждают, достигает 7. Полиморфизм был обнаружен как у европейцев, так и у африканцев в 5 из 7 локусов, а именно: в локусах PGM₁ и PGM₃ кислой эритроцитарной фосфатазы, фосфоглюкомутазы, пептидазы D и аденозиндезаминазы, в общей сложности в пяти парах локусов. Кроме того, аденилаткиназа обнаруживает полиморфизм только у европейцев, а пептидаза А — только у африканцев. Исходя из приведенных выше результатов, получается, что

из числа обследованных генных локусов почти в $\frac{1}{4}$ было обнаружено явление полиморфизма.

Вместе с тем, применяя для выявления ферментных мутаций методику электрофореза в крахмальном геле, можно обнаружить лишь те из мутаций, которые влекут за собой изменения электрических зарядов в виде молекул белков. Следовательно, в тех типах мутаций, которые не сопряжены с изменениями электрофоретической подвижности, как, например, в мутациях, вызванных замещениями нейтральной аминокислоты, ферментные мутации иногда не поддаются выявлению. Согласно данным Shaw, при мутациях, связанных с замещением единственной аминокислоты, они только приблизительно в 30% могут быть обнаружены при помощи электрофореза. Исходя из этого, можно предположить, что полиморфизм фактически существует в еще более высоких пропорциональных соотношениях. Harris высказывает мысль, что нельзя также исключить вероятность пропустить незамеченным факт наличия полиморфизма в какой-то части ферментов, так как электрофорез в крахмальном геле имеет известные пределы сепарационных возможностей.

Эритроцитарные и плацентарные ферменты, описанные в этих научных исследованиях, являются только одной частью ферментов организма человека; кроме того, исследователи были ограничены рамками популяции, выбранной в качестве объекта исследования. Тем не менее нужно признать, что результаты исследований пролили свет на существование полиморфизма также у человека — в локусах, определяющих биосинтез белков, т. е. полипептидных цепей, причем по меньшей мере в соотношении тех показателей, которые были указаны в этих научных изысканиях.

Результаты научных исследований, посвященных аналогичным с этими целям и касающимся групп крови, опубликованы Lewontion. Группы крови, вслед за тем, как в самом начале была открыта группа крови АВ0, стали постепенно открываться одна за другой приблизительно начиная с 1945 г., причем к 1962 г. появились сообщения о 33 видах групп крови. В то время Lewontion, — после того как он описал на примере популяции, состоящей из англичан, соотношения генных локусов по группам крови, указывающие на полиморфизм, — рассматривал превышение генной частоты более чем на 0,01 как полиморфизм, заявляя, что это составит 36,4% всех видов групп крови.

Виды поли...

1. Гемоглобин
2. Галтоглобин
3. Трансферрин
4. Сывороточный α-г...
5. Иммуноглобулины
6. Иммуноглобулины
7. β-липопротеины
8. β-липопротеины
9. Церулоплазмин
10. Сывороточный α-г...
11. Третий компонент
12. α-макроглобулин
13. α-кислый гликоп...
14. Глюкозо-6-фосфат
15. Фосфоглюкомутаз
16. Фосфоглюкомутаз
17. Плацентарная щел...
18. Сывороточная щел...
19. Сывороточная хо...
20. Пептидаза А
21. Печеночная хо...
22. Эритроцитарная ацети...
23. Аденлаткиназа
24. Аденлаткиназа
25. Фосфоглюкозамин...
26. Эритроцитарная д...
27. Галактозо-4-фосф...
28. Галактозо-4-фосф...
29. Панкреатическая
30. Пептидаза D

Эти значения почти приближаются к соотношениям, полученным о ферментных белках Harris с сотр.

Интересно отметить, что научные эксперименты на различных штаммах дрозофилы и изучение типов мутаций ферментных белков, согласно сообщению Lewontion, почти совпадают с данными, полученными в исследованиях на людях. Ведутся также изыскания, объектами которых являются и различные виды животных. Вместе с тем, если рассматривать их с точки зрения полученных результатов, то необходимо указать, что факт полиморфизма в подобных соотношениях представляет интерес не только в плане изучения человеческих популяций, но и в том плане, что этот феномен является универсальным для всех животных.

Таблица 2.2

Виды полиморфных биохимических признаков

1. Гемоглобин
2. Гаптоглобин
3. Трансферрин
4. Сывороточный α -глобулин (Gc)
5. Иммуноглобулины, тяжелые цепи (системы Gm)
6. Иммуноглобулины, легкие цепи (системы Inv)
7. β -липопротеины (системы Ag)
8. β -липопротеины (системы Lp)
9. Церулоплазмин
10. Сывороточный α_1 -антитрипсин
11. Третий компонент комплемента (системы C'3)
12. α_2 -макроглобулин (системы Xm)
13. α_1 -кислый гликопротеин
14. Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа
15. Фосфоглюкомутаза (локус ФГМ₁)
16. Фосфоглюкомутаза (локус ФГМ₃)
17. Плацентарная щелочная фосфатаза
18. Сывороточная холинэстераза (локус E₁)
19. Сывороточная холинэстераза (локус E₂)
20. Пептидаза A
21. Печеночная ацетилтрансфераза
22. Эритроцитарная кислая фосфатаза
23. Аденилаткиназа
24. Аденозиндезаминаза
25. Фосфоглюконат-дегидрогеназа
26. Эритроцитарная НАД нуклеозидаза
27. Галактозо-1-фосфат уридил-трансфераза
28. Глутатионредуктаза
29. Панкреатическая амилаза
30. Пептидаза D

2.3. ВИДЫ И ФУНКЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ

Предполагается, что количество генных локусов, обнаруживающих полиморфность, достигает большого числа. Однако подтвержденные до настоящего времени биохимические признаки, как это иллюстрируется табл. 2.2, представлены 30 видами белков плазмы крови и эритроцитарными ферментами.

В числе полиморфных признаков, подобно вариантам гемоглобина и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и пр., имеются также, которые сочетаются с характерными патологическими состояниями, а иногда и являются признаком определенного заболевания. Полученные примеры связаны с систематическими научными исследованиями Harris с сотр. Иногда в процессе научных исследований, преследующих другие цели, случайно выявляются и иные факты в указанном плане. Случается, что в процессе таких изысканий некоторые факты обнаруживаются впервые.

Впоследствии, когда будут открыты усовершенствованные методы анализа, а также когда расширится число анализируемых признаков у исследуемых объектов, очевидно, можно будет обнаружить еще большее число полиморфных признаков. В настоящее время число видов полиморфных признаков еще очень невелико; кроме того, имеются признаки с неясными физиологическими функциями. Вместе с тем не следует думать, что явление полиморфизма тяготеет к определенному пути метаболизма или к определенным физиологическим функциям.

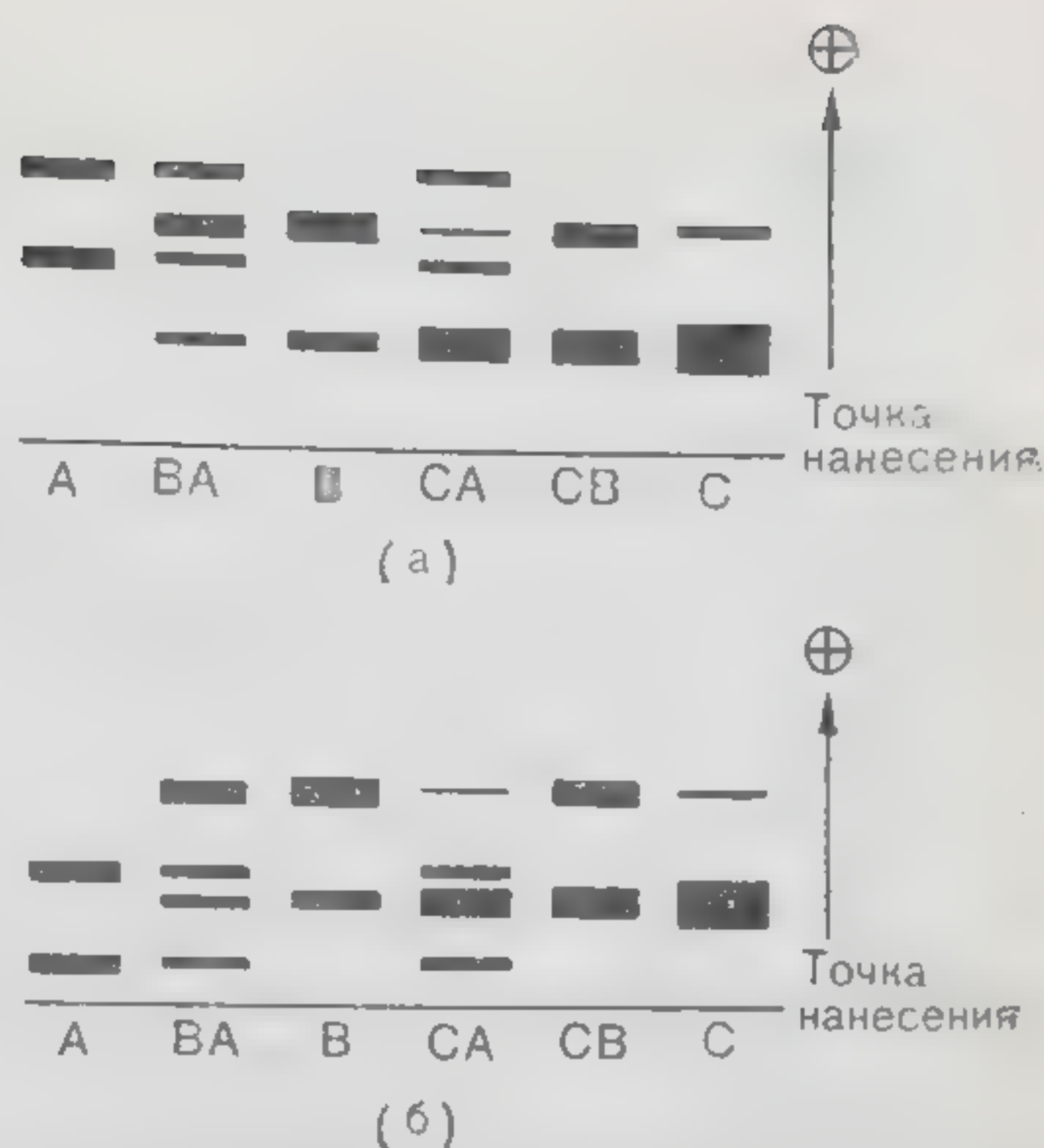
Среди полиморфных отличительных признаков, как это имеет место в случае с гемоглобином и гаптоглобином, некоторые из первичных структур, соответствующих типу гена, уже выяснены. Однако, что касается эритроцитарных ферментов и пр., в настоящее время еще имеются затруднения в структурном анализе, а генетический анализ чаще всего и совсем не осуществляется.

Yoshida подверг анализу факт замещения аспарагиновой кислотой аспарагина в составе глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы типа (B), относящийся к типу мутации A^+ и широко распространенный среди африканцев. В результате он пришел к выводу о вероятности точечной мутации. Ученый полагает, что большая часть структурных мутаций происходит на основе точечных мутаций, несмотря на то что иногда такую мутацию можно объяснить дупликацией

Рис. 2.1.

Электрофореграмма эритроцитарной кислой фосфатазы в крахмальном геле (Harris, 1970).

а — цитратфосфатный буферный раствор, рН 6,0; б — фосфатный буферный раствор, рН 6,0.



гена, происходящей в процессе эволюции молекулы, как это имеет место в варианте с геном Hr^2 гаптоглобина, или в результате делеции, как это происходит в одной части структурной мутации гемоглобина.

Какими бы сложными и тонкими химическими структурами ни обладали ферменты и функциональные белки, при изменениях в одном из фрагментов химической структуры, обусловленных мутацией, любые изменения, происходящие в аномальном органе и в известной степени в биологическом виде организма, в исконных функциях и характеристике самих белков, становятся понятными на основании анализа особенностей аномального гемоглобина и других аномальных белков.

Точно такое же положение и с другими полиморфными биохимическими признаками: известно, что при помощи анализа фенотипов можно выявить расхождения в показателях ферментной активности и в величинах концентраций в крови, если принять физиологические функции этих биохимических признаков в качестве количественных показателей, пользуясь в вычислениях обычными способами измерений. Хотя все это и представляет собой проблему, интересную как с точки зрения биологического значения полиморфизма, так и в связи с механизмом его сохранения, однако здесь имеется еще много неразрешенных моментов. Далее будет в доступной форме говорить об этом на примере эритроцитарной кислой фосфатазы, характерной для полиморфного фермента.

Было обнаружено, что этот фермент, оптимум рН которого находится в кислой области, при электрофорезе на крахмальном геле обнаруживает полиморфность, причем

все его формы катализируют гидролиз эфиров фосфорной кислоты. Этот фермент, как иллюстрируется рис. 2.1, по своим электрофоретическим свойствам подразделяется по фенотипам на 6 взаимно отличающихся друг от друга видов: А, ВА, В, СА, СВ и С. При этом, как уже было показано, они определяются тремя видами аллельных генов P^a , P^b , P^c на поверхности аутосом.

Теперь, если мы попытаемся измерить показатели ферментативной активности каждого из фенотипов в отдельности, взяв в качестве субстрата паранитрофенилфосфат, то уровень активности будет изменяться в зависимости от фенотипа. Таким образом, гомозиготы типа А будут иметь самые низкие показатели активности, те же гомозиготы типа В будут иметь показатели, на 50% превышающие показатели типа А, а гетерозиготы типа ВА обнаружат средние по сравнению с предыдущими показатели. Кроме того, если вывести среднее число показателя активности для типа СВ, то выявится, что оно выше, чем соответствующие показатели типов В и СА.

Исходя из этого, количественное различие в ферментной активности в зависимости от фенотипа, определение фенотипов на основе их распределения тремя видами аллельных генов, и более того, выражение взаимных соотношений по каждому гену в отдельности в виде $P^a : P^b : P^c = 2 : 3 : 4$ — все это в сумме навело на мысль о том, что ферментная активация основывается на кумулятивном воздействии трех видов генов. Такое несоответствие в показателях активности, наблюдаемое среди генов, соответственно порождается аллельными генами. Имеется предположение, что это происходит из-за изменений в структуре ферментных белков.

Кислая фосфатаза эритроцитов у некоторых индивидуумов имеет измененный фенотип. Поэтому и так называемая изменчивость ее ферментной активности, а также вопрос о смысле, заложенном в механизм внутриэритроцитарного метаболизма, равно как и положение с другими отличительными признаками, все еще остаются проблемами будущего. Кроме того, что касается мутантных ферментов, то, помимо показателей ферментной активации, — в предвидении определения свойств ферментов по отношению к особенностям субстрата, наиболее соответствующему рН и блокирующим веществам, а также в предвидении тех изменений, которые сопряжены с физико-химическими свойствами молекулы белка, — взаимосвязи между

этими различиями
в дальнейшем
Желательно
ческий смысл

Этот белок
составе α_2 -глоб
обладающим
in vivo специ
Polonovsky и
пость гемоглоб
крови в раство
ная активност
рону. Они отк
ствованием бел
комплекс. Уче
Далее, исходя
гаптоглобина
другими солями
требовалась бо
других, было с
этом белке ин
лось, что по ме
ского гаптоглоб
ным 85 000, и I
2 раза выше — 1

а. Фер
В 1955 г. Smi
ществовавший до
ложили проводить
цессе маркировки
фракции, подтве
обладающего сво
глобином крови. Е
аналогичное гап
В следующем год
следующие рас
электрофоретичес
ные различия рас
как было подвер
крови, было ос
5*

этими различиями в химических изменениях и функциях в дальнейшем будут разъяснены на молекулярном уровне. Желательно, чтобы пролился свет и на генетико-биохимический смысл полиморфизма.

2.4. ГАПТОГЛОБИН

Этот белок, представляющий собой гликопротеид в составе α_2 -глобулина, является белком сыворотки крови, обладающим свойством образовывать как *in vitro*, так и *in vivo* специфический комплекс с гемоглобином крови. Polonovsky и Jayle, изучая в 1938 г. пероксидазную активность гемоглобина, убедились, что при добавлении плазмы крови в раствор гемоглобина повышается его пероксидазная активность, а оптимум pH изменяется в кислую сторону. Они открыли, что это происходит благодаря существованию белкового компонента, образующего прочный комплекс. Ученые назвали этот белок гаптоглобином.

Далее, исходя из того, что при очистке человеческого гаптоглобина (путем высаливания сульфатом аммония и другими солями) для одних образцов человеческой плазмы требовалась более высокая концентрация солей, чем для других, было сделано предположение, не содержатся ли в этом белке индивидуальные различия. Позднее выяснилось, что по меньшей мере существует два вида человеческого гаптоглобина — II тип с молекулярным весом, равным 85 000, и I тип, молекулярный вес которого почти в 2 раза выше — 165 000.

а. Фенотипы и генотипы гаптоглобина

В 1955 г. Smithies с сотр., принципиально изменив существовавший до того времени метод электрофореза, предложили проводить электрофорез в геле крахмала. В процессе маркировки белков плазмы, разделенных на микрофракции, подтвердилось наличие компонента белков, обладающего свойством образовывать соединения с гемоглобином крови. В результате было показано, что это и есть аналогичное гаптоглобину вещество, открытое Jayle с сотр. В следующем году они обратили внимание на то, что на электрофоретической картине наблюдаются индивидуальные различия распределения гаптоглобина. По мере того как было подвергнуто анализу большое число проб плазмы крови, было обнаружено, что можно подразделить основ-

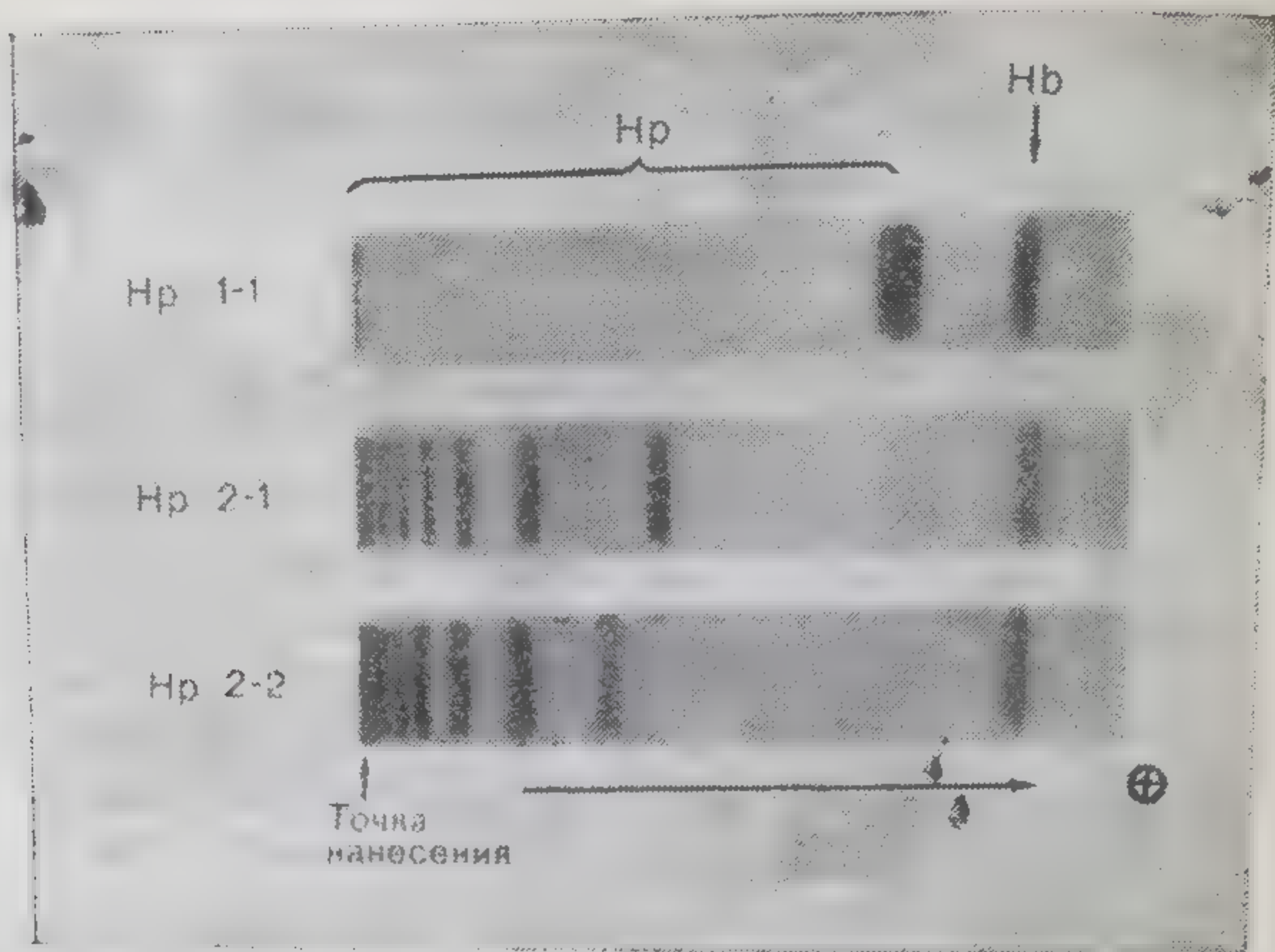


Рис. 2.2. Электрофореграмма трех типов гаптоглобина ■ акрил-амидном геле.

ную часть гаптоглобинов человека на три фенотипа, причем, как это иллюстрируется на рис. 2.2, они были названы $Hr\ 1-1$, $Hr\ 2-1$ и $Hr\ 2-2$.

В дальнейшем на основании обширного материала семейных исследований было показано, что эти индивидуальные различия обусловлены генетически, а именно: они определяются аллельными генами Hr^1 и Hr^2 , которые абсолютно равноправны на поверхности аутосомы. В связи с этим было решено, что $Hr\ 1-1$ и $Hr\ 2-2$ являются гомозиготами соответственно Hr^1Hr^1 и Hr^2Hr^2 , а $Hr\ 2-1$ — гетерозиготой Hr^2Hr^1 (Smithies, Walker, 1956). Что же касается генетической структуры Hr , то позднее на эту тему было осуществлено множество дополнительных экспериментов и, за исключением обнаруженных в небольшой части случаев нетипичных видов разделения, было подтверждено, что гипотеза Smithies с сотр. вполне справедлива.

В 1962 г. Connell и Smithies с сотр., предварительно подвергнув гаптоглобин восстановительному алкилированию меркаптоэтанолом в присутствии мочевины с применением крахмального геля, содержащего 8 грамм-молекул мочевины, подвергли его электрофорезу при кислом рН. Они выявили, как это проиллюстрировано на рис. 2.3, что гаптоглобин способен делиться на измененные пептидные цепи,

Рис. 2.3. Эл-гел-дая

отличающ...
(Smithies e...
Такая м...
разделения...
ные цепи, с...
лекулярных...
привела к э...
аномальных...
Что касает...
что эти белк...
как это по...
 α -цепь и β -ц...
ретической п...
паковой для...
подвижность...
типа гаптогл...
отличающуюс...
вижностью α ...
 $Hr\ 2-2$ можн...
и α^2 -цепь, а у...
цепь почти в...
желтых резул...



Рис. 2.3. Электрофореграмма типов гаптоглобина в крахмальном геле с мочевиной (Smithies et al., 1962a). Выделены каждая из цепей α^{1F} , α^{1S} , α^2 , β .

отличающиеся электрофоретической подвижностью (Smithies et al., 1962a).

Такая методика с использованием восстановительного разделения белков и разложения на структурные пептидные цепи, с выяснением генетического распределения молекулярных структур и биосинтеза белков и ферментов, привела к значительному прогрессу в научном изучении аномальных белков и изозимов.

Что касается гаптоглобина любого типа, было выявлено, что эти белки образуются из двух видов пептидных цепей, как это показано на рис. 2.3, — быстро мигрирующие α -цепь и β -цепь, являющиеся цепями с малой электрофоретической подвижностью. При этом β -цепь обладает одинаковой для всех трех фенотипов электрофоретической подвижностью, а α -цепь, меняющаяся в зависимости от типа гаптоглобина, подразделяется на два вида цепей — отличающуюся более высокой электрофоретической подвижностью α^1 -цепь и более медленный компонент — α^2 -цепь. Затем было выяснено, что у гомозигот Hр 1—1 и Hр 2—2 можно наблюдать только соответствующие α^1 -цепь и α^2 -цепь, а у гетерозигот Hр 2—1 имеются α^1 -цепь и α^2 -цепь почти в равных соотношениях. Исходя из вышеизложенных результатов, можно полагать, что α^1 -цепь и α^2 -

цепь соответственно являются продуктом соединения двух аллельных структурных генов Hr^1 и Hr^2 , а β -цепь определяется другим геном ($Hr \beta$).

б. Подтипы гаптоглобина

Когда гаптоглобин подвергается анализу при помощи обычного электрофореза в крахмальном геле, то α^1 -цепь представляется при данной методике анализа единой. Однако, как выяснилось, она разделяется на два вида цепей, обнаруживающих различную электрофоретическую подвижность, а именно α^{1F} -цепь и α^{1S} -цепь (рис. 2.3), причем было выявлено, что эти цепи определяются аллельными генами Hr^{1F} и Hr^{1S} (Smithies et al., 1962). У гомозигот по Hr^{1F} , который отличается большей электрофоретической подвижностью, чем у гомозигот по Hr^{1S} , образуется α^{1F} -цепь, а у гетерозигот $Hr^{1F} Hr^{1S}$ существуют обе эти цепи в равных молекулярных соотношениях. Аналогично было выявлено, что у гетерозигот $Hr^2 Hr^1$ также имеются два типа гаптоглобина, т. е. $Hr^2 Hr^{1F}$ и $Hr^2 Hr^{1S}$. Таким образом у гена, распределяющего α -цепь, имеется три сложных аллельных гена, которые раздробились на шесть видов фенотипов. А именно, если к трем типам — $Hr 1-1$, $Hr 1F-1F$, $Hr 1S-1S$ и $Hr 1F-1S$ и к двум типам — $Hr 2-1$, $Hr 2-1F$ и $Hr 2-1S$ — прибавить $Hr 2-2$, то получится всего шесть фенотипов. Следует, однако, указать, что выделение подтипов гаптоглобина требует сложной процедуры, поэтому на современном уровне обследования генетической частоты этим методом пользуются редко.

в. Химическая структура гаптоглобина

Гаптоглобин, будучи одним из маркеров α_2 -глобулина плазмы крови, содержит в себе углеводную часть, которая соответствует приблизительно 18% молекул белка. После того как было выяснено, что гаптоглобин имеет шесть видов фенотипов, объектом интереса стал служить вопрос: что представляют собой химические различия на уровне структур?

Как уже ранее отмечалось, гаптоглобин, к какому бы фенотипу он ни принадлежал, складывается из двух видов пептидных цепей — α -цепи и β -цепи. Далее в ходе исследования аминокислотных остатков с N-конца подтверди-

лось, что валин и изолейцин имеются в одинаковых количествах, в результате чего пришли к выводу, что во всех типах гаптоглобина α -цепи и β -цепи содержатся в равных молекулярных количествах. Поскольку в β -цепи между фенотипами не обнаруживается различий, интерес переключился на α -цепь.

1) Первичная структура α -цепи

Как было описано выше, если принять предварительным условием, что в α -цепи имеются три подвида цепей, α^{1F} , α^{1S} и α^2 , определяемых сложными аллельными генами Hr^{1F} , Hr^{1S} , Hr^2 , то будет получена следующая информация. α^{1F} -цепь и α^{1S} -цепь, обладающие почти одинаковым молекулярным весом 8900 ± 400 , идентичны по валину, находящемуся на N-конце, и глутамину, находящемуся на C-конце.

Smithies с сотр., сравнивая пептидные схемы обеих цепей при помощи гидролиза химотрипсином, определили, что изменяется только один пептид (соответственно либо пептид F, либо пептид S), а затем, осуществляя аминокислотный анализ этого пептида, пришли к выводу о том, что различия в структурах обеих цепей, по всей вероятности, являются результатом замещения единственной аминокислоты. Затем, предположив, что, возможно, это происходит из-за точечной мутации, приводящей к замещению лизина α^{1F} -цепи на глутаминовую кислоту в α^{1S} -цепи, показали, что и различие в электрофоретической подвижности тоже является таким образом вполне объяснимым (Smithies et al., 1962).

С одной стороны, α^2 -цепь, так же как и α^1 -цепь на N-конце и на C-конце, содержит одни и те же аминокислоты, причем молекулярный вес α^2 -цепи равен $17\,300 \pm 400$, а молекулярный вес α^1 -цепи — почти в 2 раза выше. Smithies с сотр., исходя из пептидной схемы, пришли к выводу, что α^2 -цепь содержит в α^{1F} -цепи и α^{1S} -цепи характерные пептид F и пептид S; все пептиды, которые присутствуют в обеих цепях, в том числе и остаточный пептид J, именуются большим пептидом. Этот пептид J содержит изолейцин, находящийся аналогично пептиду C на N-конце, и тирозин, находящийся аналогично пептиду N, на C-конце аминокислотной цепи.

Исходя из этого, они построили предположение о том, что пептид J, включающий одну часть концевой участка



Рис. 2.4.
 Hr^{1F} и Hr^{1S} являются гетерозиготами, поэтому происходит неравный кроссинговер. Гипотеза о процессе выявления гена слияния Hr^2 (Smithies et al., 1962b).

пептида С и пептида N, может представлять собой продукт сцепления в результате образования пептидного соединения. Затем они предположили, что ген Hr^2 образуется в результате слияния двух генов Hr^{1F} и Hr^{1S} , и объяснили причину его формирования следующим образом.

Как это иллюстрируется на рис. 2.4, гомологичные хромосомы, образуя пары в процессе мейоза, не в состоянии формировать правильные пары в тех участках, в которых в результате мутации изменена одна из цепей ДНК. Поэтому ДНК, не образовав пар в этих измененных частях сцепления, образует петли и, в конечном счете, контакты обеих нитей ДНК становятся аномальными. Если кроссинговер хромосом произойдет в таком аномальном участке и на месте кроссинговера произойдет разрыв, а затем повторное слияние, то это вызовет в одной стороне заново сформированной хромосомы частичную дупликацию вплоть до слияния гена; в другой же стороне хромосомы это, очевидно, должно повлечь за собой делецию гена (Smithies et al., 1962).

Если принять гипотезу Smithies о неравном кроссинговере как справедливую, то получится, что в процессе молекулярной эволюции ген Hr^2 возник после того, как были образованы гены Hr^{1F} и Hr^{1S} . Кстати, ген Hr^2 встречается только у человека, гаптоглобин же всех других животных представляет собой лишь нечто приближенное к Hr^1-1 .

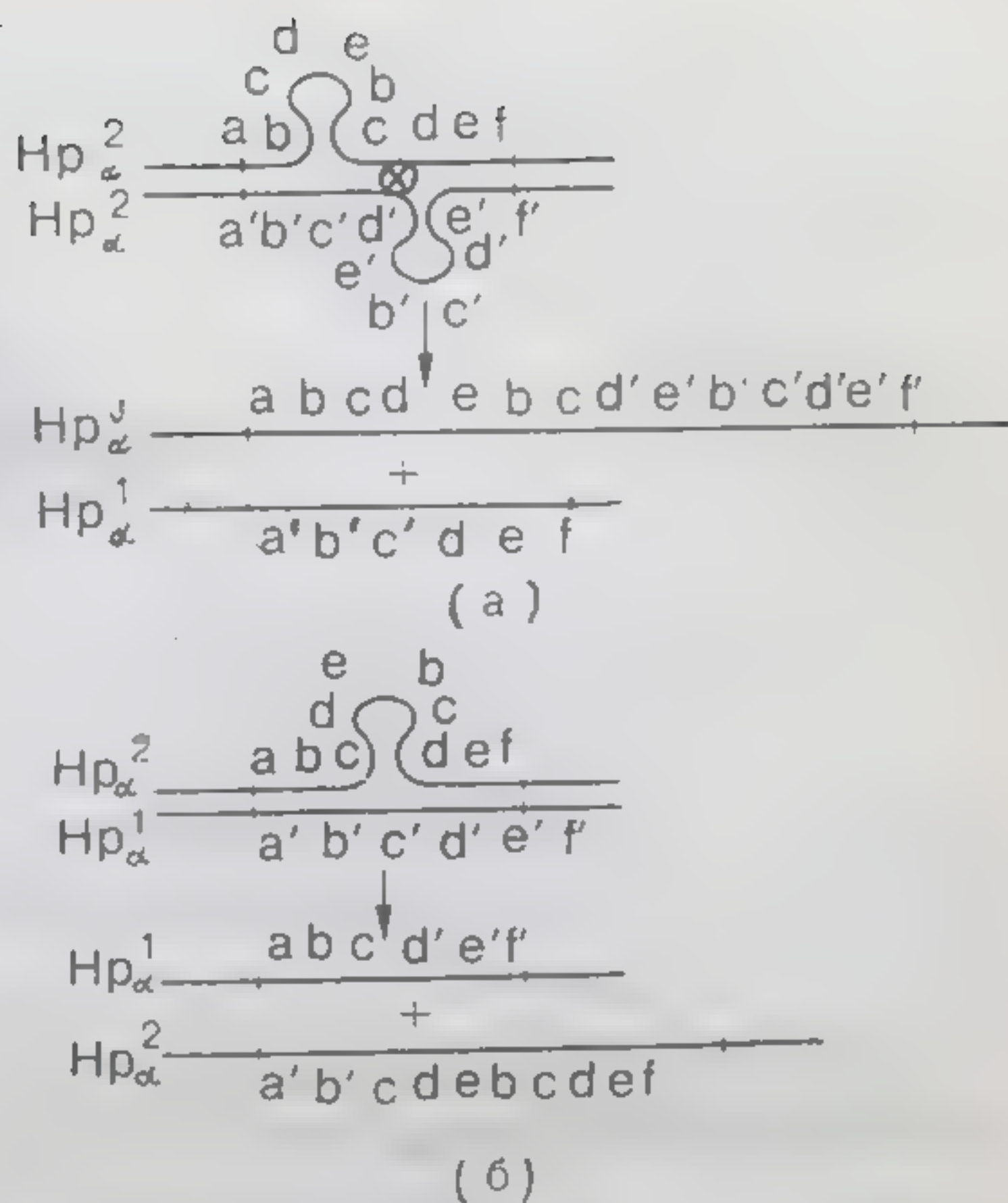
Рис. 2.5.
 Процесс образования нового гена в популяции кроссинговером неравных хромосом гетерозиготных Hr^{1F} и Hr^{1S} (Smithies, 1970).

Принято считать, что ген Hr^2 заключен в геном, но и в со-
 лелей, но и в со-
 высокой стадии
 исходит в проц
 ра у гомозигот
 ми слияния.
 Smithies, пре
 Hr^2 , как это по
 кроссинговер ве
 этого легко мож
 вод о вероятнос
 ложения разнов
 Hr^{2SF}) и горяче
 генов.

Позднее было
 son, строение ко
 женной мысли. С
 ставляет собой
 африканцев. Одн
 с этим типом га
 Если подвергну
 виной на структу
 мальном геле, то
 мелкие пептиды,
 тической подвиж
 лось структурн

Рис. 2.5.

Процесс образования гена Hr^1 и нового гена Hr^2 в связи с неравным кроссинговером гомозиготных Hr^2Hr^2 (а) и гетерозиготных Hr^2Hr^1 (б) (Sutton, 1970).



Принято считать, что генетический эффект слияния гена Hr заключается не только в формировании новых аллелей, но и в создании подходящих условий для еще более высокой стадии — «генного размножения», которое происходит в процессе неравного гомологичного кроссинговера у гомозигот или гетерозигот, обладающих этими генами слияния.

Smithies, предполагая, что при наличии гомозиготного Hr^2 , как это показано на рис. 2.5, происходит неравный кроссинговер вследствие перегруппировки и в результате этого легко может произойти частное утроение, сделал вывод о вероятности образования, в зависимости от расположения разновидностей гена Hr^2 (Hr^{2FS} , Hr^{2FF} , Hr^{2SS} , Hr^{2SF}) и горячей точки, различных видов триплекатных генов.

Позднее было опубликовано сообщение о типе Hr Johnson, строение которого как раз и соответствует вышеизложенной мысли. Согласно Giblett, этот тип Hr Johnson представляет собой редкий тип мутации, обнаруженный у африканцев. Однако авторы также обнаружили одну семью с этим типом гаптоглобина в Японии, в г. Фукуока.

Если подвергнуть Hr этого индивида разложению мочевиной на структурные пептиды и электрофорезу на крахмальном геле, то, помимо обычной α^1 -цепи, выделятся мелкие пептиды, отличающиеся еще большей электрофоретической подвижностью, чем α^2 -цепь. Хотя и не проводилось структурного анализа этой мутантной цепи, следует

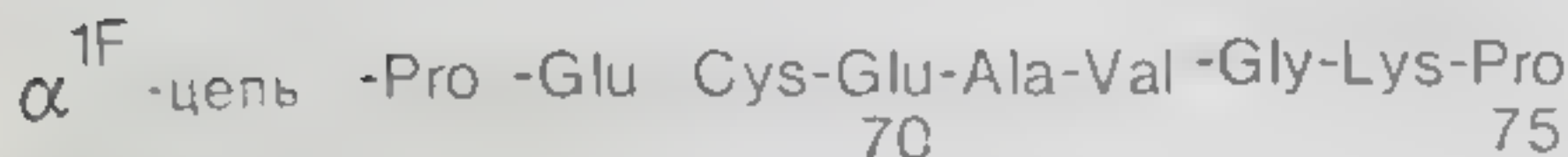


Рис. 2.7. Сравнение аминокислот N-конца α -цепи 9~17 и аминокислот 67~75 с кодовами их РНК (Black, Dixon, 1968).

α^2 -цепь образуется из 142 аминокислот, и если попытаться сравнить расположение этих аминокислот с соответствующим расположением аминокислот в α^1 -цепи, то убедимся, как это показано на схеме 2.6, что расположение аминокислот со стороны N-конца α^2 -цепи и вплоть до 71 соединения аланина абсолютно идентично с отрезком N-конца α^1 -цепи (1 ~ 71 соединения). Кроме того, выяснилось, что, начиная с этого отрезка и до C-конца, 72 аминокислотных остатка α^2 -цепи соответствуют α^1 -цепи, причем C-конец α^1 -цепи (13 ~ 83 остатка) имеет совершенно аналогичное расположение аминокислот.

Таким образом, результаты, полученные Black и Dixon, поддержали теорию Smithies о том, что ген Hr^2 порожден неравным кроссинговером генов Hr^{1F} и Hr^{1S} . Предполагается, что правильное место кроссинговера не устанавливается из-за того, что в обоих местах имеется аланин, и кроссинговер, очевидно, происходит где-то в районе 71-го и 12-го остатков.

Далее Black и Dixon описывают, в какой мере имеется сходство между 9~17 остатками N-конца α^1 -цепи и каждого из 9 аминокислотных остатков участка 67~75 (в этой части α^{1F} - и α^{1S} -цепи имеют одинаковое расположение аминокислот) и соответствующим расположением оснований кодонов РНК. В результате, как это указано на схеме 2.7, если попытаться сравнить 1-е соединение и 2-е соединение триплетного кода этих 9 аминокислот (всего 18 оснований), то станет понятным, что 11 оснований из этого числа идентичны. Как утверждают ученые, в этой части, очевидно, происходит смещение синапса.

2) Первичная структура β -цепи

Анализ химической структуры β -цепи нельзя считать успешным по сравнению с анализом α -цепи. Молекулярный вес составляет около 40 000. На N-конце аминокислотной цепи находится изолейцин, а на C-конце — валин. Cleve с сотр., выделив β -цепь из числа трех видов гаптоглобина, провели сравнительное изучение аминокислот и триптических пептидных карт. Однако им не удалось заметить каких-либо расхождений.

Углеводная часть Нр, соответствующая 18,6% молекул Нр, полностью включена в состав β -цепи. На одну молекулу приходится 16 частей галактозы, 16 частей глюкозамина, 8 частей маннозы, 8 частей сиаловой кислоты и 1~2 части фукозы, причем следует полагать, что при любом фенотипе состав идентичен.

Если подвергнуть Нр восстановительному расщеплению на две цепи в отдельности, то α -цепь не будет образовывать соединений с гемоглобином, а β -цепь легко будет соединяться с гемоглобином. Поэтому следует думать, что в β -цепи имеются центры соединения с гемоглобином.

г. Молекулярная структура каждого из типов гаптоглобина

Как показано на рис. 2.2 (абсолютно идентично как при электрофорезе в крахмальном геле в качестве поддерживающей среды, так и при электрофорезе в акриламидном геле) Нр 1—1 представляет собой отдельный компонент, а Нр 2—1 и Нр 2—2 делятся на многочисленные электрофоретические зоны, которые даже на первый взгляд представляются сложными. Предполагается, что обычно два или более двух видов аллельных генов обуславливают синтез пептидов, имеющих весьма близкое сходство. Вместе с тем на примере с Нр электрофоретическая зона гетерозиготного Нр 2—1 обнаруживает измененную электрофоретическую подвижность по сравнению с соответствующей зоной гомозиготного гаптоглобина. Кроме того, хотя гомозиготный Нр² Нр² и не представлен отдельным компонентом, обнаружение многочисленных различных по электрофоретической подвижности компонентов следует назвать специфическим биохимическим отличительным признаком.

Вопросы: какую молекулярную структуру имеют эти белки гаптоглобина; при каких обстоятельствах образуются такие группы белков; какое значение для проявления физиологических функций гаптоглобина имеют структурные различия, и пр. — издавна служили объектом интереса для исследователей.

Во всяком случае, если рассмотреть характерные особенности гаптоглобина на электрофоретической картине, то в Нр 2—2 совершенно не обнаружится компонентов, соответствующих Нр 1—1, а в зоне электрофореза, показывающей более замедленную по сравнению с упомянутой подвижность, их можно будет обнаружить приблизительно около 10. Эти компоненты в порядке возрастающей в сторону анода электрофоретической подвижности называют компонентами I, II, III... и т. д. По сравнению с этим у Нр 2—1 гетерозигот, Нр которых также делится на 10 с лишним электрофоретических зон, компонент I, имеющий наиболее высокую электрофоретическую подвижность, обнаруживает одинаковую с Нр 1—1 электрофоретическую подвижность. Компоненты II, III, IV... обладают гораздо большей электрофоретической подвижностью, соответствующей Нр 2—2. Далее, если попытаться измерить соответствующие количественные процентные соотношения каждого из всех этих компонентов, принимая в качестве показателя их способность соединяться с Нв, то эти соотношения будут следующими в порядке возрастающей в сторону анода электрофоретической подвижности: для Нр 2—2—11 : 35 : 25 : 17 : 9 : 2, а для Нр 2—1—17 : 29 : 21 : 19 : 10 : 1.

Эти многочисленные компоненты белков, не подвергаясь разделению свободным электрофорезом, обнаруживаются только методом электрофореза с использованием крахмального геля и полиакриламидного геля в качестве поддерживающих сред, обладающих эффектом молекулярного сита. В результате этого, а также в процессе изучения материалов родословных и т. д. было сделано предположение о том, что и размер, и форма молекулы каждого из компонентов изменяются еще и в зависимости от электрического заряда белковой молекулы.

Как это иллюстрируется на белках Нр 2—2 и Нр 2—1 (рис. 2.8), Allison (1959), используя гипотезу о полимеризации белковых молекул как факт, сделал попытку дать унифицированное толкование. Эта гипотеза принадлежала к тому периоду, когда еще не существовало информации о структурных пептидах гаптоглобина, поэтому детали по-

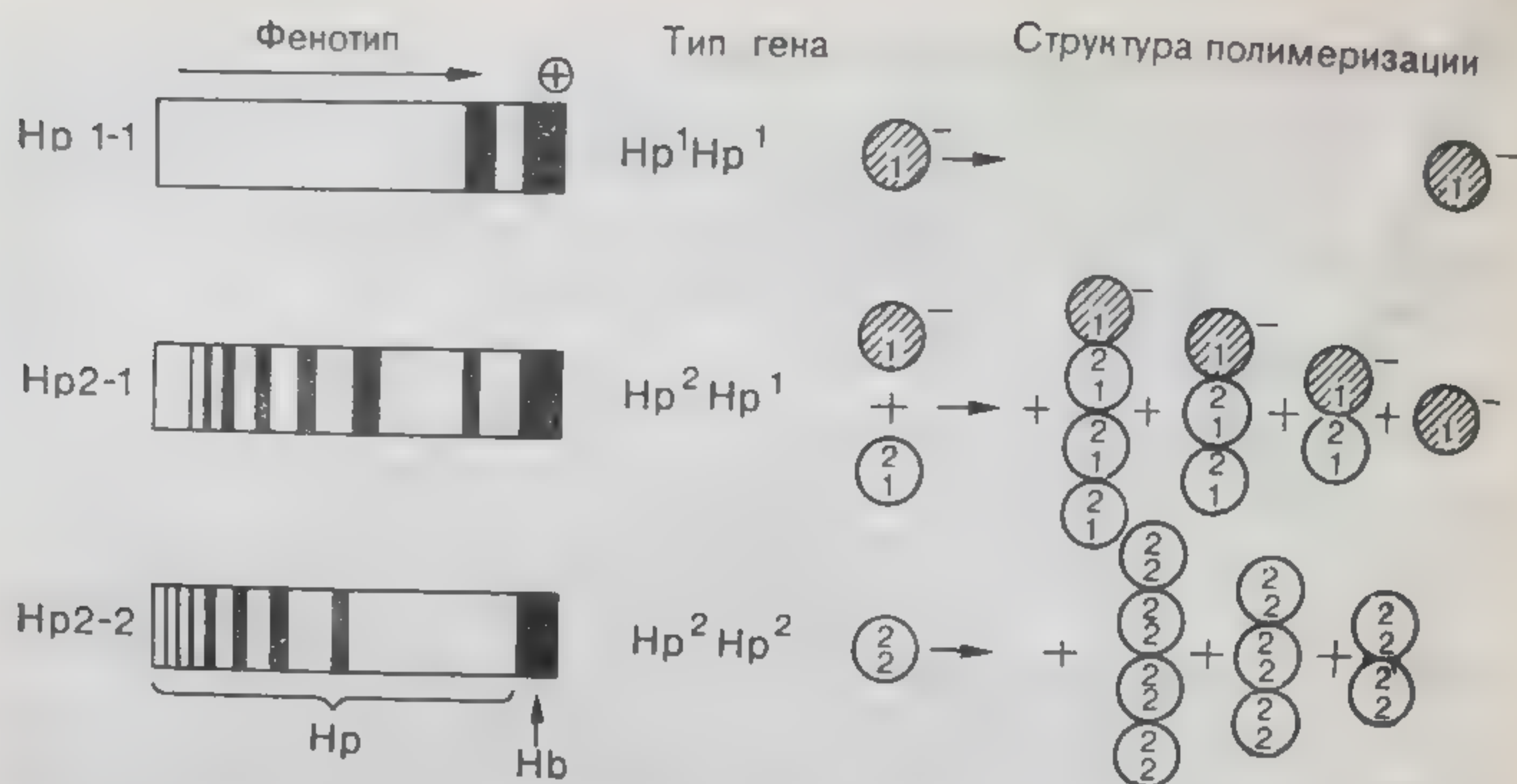


Рис. 2.8. Теория полимеризации белков гаптоглобина по Allison (Allison, 1959).

лимеризационных структур не затрагивались, и только на основании более поздних исследований в основном были получены правильные представления.

Лучше других изучен белок Нр 1—1, представляющий собой единичный компонент, который имеет самую простую из трех видов гаптоглобина структуру. Этот белок, представляя собой глобин с молекулярным весом около 100 000, при гидролизе разделяется на α^1 -цепь (α^{1F} - и α^{1S} -цепи с молекулярным весом около 9000) и β -цепь (с молекулярным весом около 40 000), находящиеся в равном отношении. Кроме того, выяснилось, что в качестве аминокислотных остатков с N-конца (считая, что идентичность весов валина и изолейцина уже доказана, а белок Нр 1—1 образуется из двух α^1 -цепей и двух β -цепей) Нр 1—1 содержит структуру $(\alpha^1\beta)_2$. Предполагается, что два вида цепей, связанные соединением S—S, представляют собой димер субъединицы $\alpha^1\beta$.

В противоположность этому были опубликованы данные, которые послужили обоснованием для гипотезы об образовании белков Нр 2—2 и Нр 2—1 из группы полимеров. Bearn и Franklin и Herman-Boussier с сотр., осуществив анализ препарата Нр и комплексных соединений Нб—Нр методом ультрацентрифугирования, выяснили, что скорость оседания Нр 2—1 и Нр 2—2 неодинакова, и это происходит из-за различной величины молекул групп белков. Кроме того, существуют белки с бóльшим молекулярным весом по сравнению с белками Нр 1—1.

Bernini с сотр., подвергнув Нр 2—2 гидролизу и разделив его на α^2 -цепь и β -цепь, после повторного окисления смешанного равного числа грамм-молекул обеих разделенных цепей в процессе осуществления электрофореза в крахмальном геле обнаружили одинаковую картину с электрофореграммой Нр 2—2 до обработки. Также в случае с Нр 2—1 при смешивании разделенных α^1 -цепи, α^2 -цепи и β -цепи в пропорции 1 : 1 : 2 и после аналогичной обработки была получена прежняя картина на электрофореграмме Нр 2—1.

Таким образом были накоплены результаты, иллюстрирующие, что многочисленные компоненты Нр, превращаясь в структурные пептиды $\alpha(\alpha_1 \text{ и } \alpha_2)$ -цепи и β -цепи, являются группой белков с различной степенью полимеризации (ассоциации).

Хотя группы полимерных белков Нр в обычных условиях формируют весьма стабильные молекулы, однако, что касается самого механизма полимеризации на уровне физико-химических научных представлений о белках, то здесь все еще остается очень много неясных моментов. Кроме того, еще появились различные точки зрения на формирование молекулярных структур каждого из этих компонентов.

Не вникая в подробности, укажем, что Shim с сотр., исходя из сравнения структур α^2 -цепи и β -цепи, предполагают, что Нр 2—2 имеет молекулярную структуру $(\alpha^2\beta)_n$, $n=4, 6, 8...$ В свою очередь, исходя из соотношений генетического анализа мутантного типа Нр 2—1 М и каждого из компонентов Нр 2—1 и пр., Parker и Bearn сделали предположение о следующей полимеризационной структуре Нр 2—1: $(\alpha^1_2\beta_2)(\alpha^2\beta)_n$, $n=0, 1, 3, 5...$, а Sutton и Кагр предположили, что молекулярная структура представляет собой $(\alpha^1)_2(\alpha^2)_n\beta_x$, $n=0, 1, 2, 3...$ Так или иначе, для обоснования этих предположений имелись лишь скудные экспериментальные данные, поэтому, строго говоря, все это не выходило за пределы гипотез.

Авторы (Ogawa et al., 1970; Kawamura et al., 1972a, 1972b), осуществляя электрофорез в акриламидном геле и добавляя к гаптоглобину то количество гемоглобина, которое не превышает возможностей Нр к комплексованию, не только убедились в возможности увидеть насыщенный комплекс, в котором — соответственно в каждом из компонентов Нр — гемоглобин полностью насыщает гаптоглобин, но и в возможности наблюдать определенное число

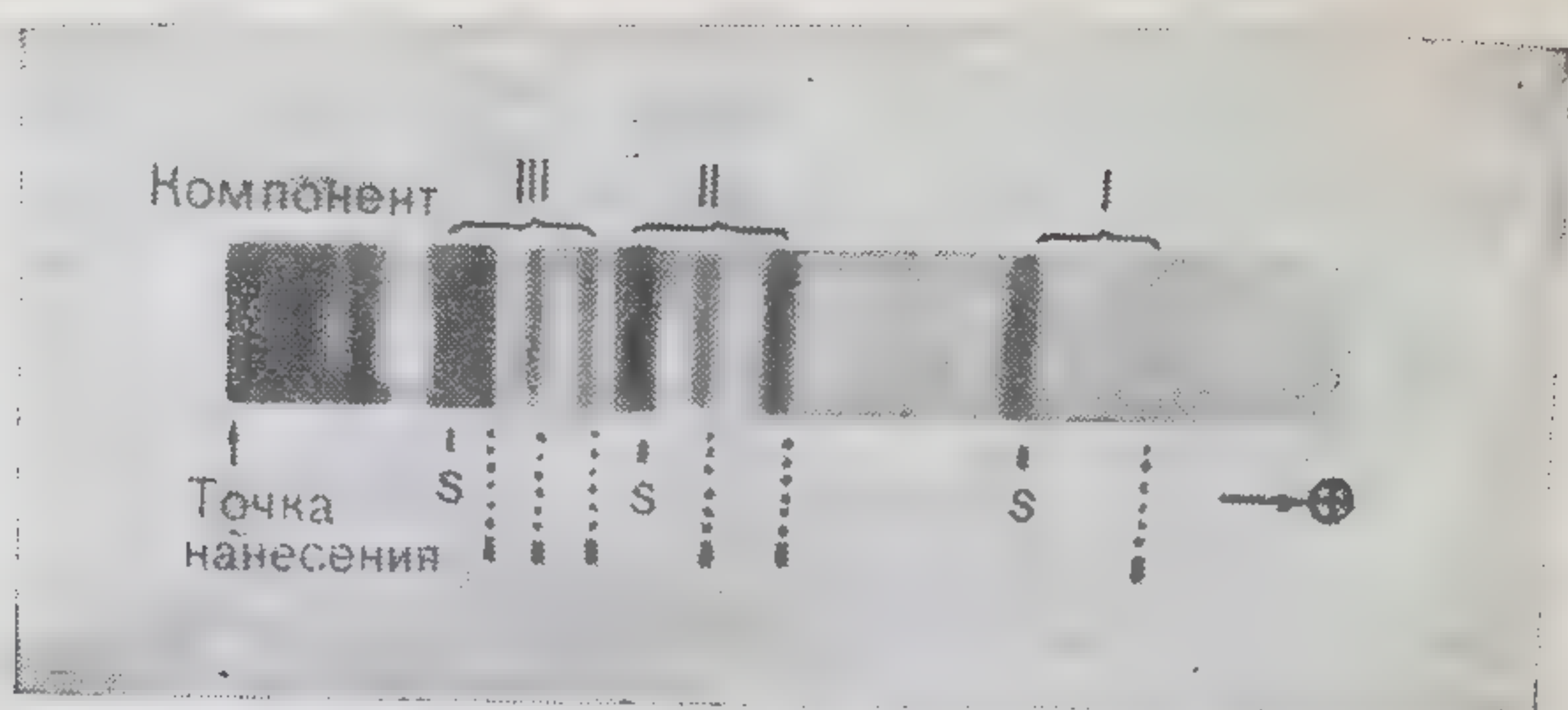


Рис. 2.9. Электрофореграмма частично насыщенного гемоглобином Нр 2—1 в акриламидном геле (Огава и др., 1970). В каждом из компонентов выделяется один насыщенный комплекс (s) и определенное число промежуточных комплексов (i). Если происходит насыщение гемоглобином, то образуется только насыщенный комплекс, как это получилось на рис. 2.2.

промежуточных комплексов частичного насыщения, которые, насыщаясь гемоглобином, исчезают вовсе.

Хотя ранее было признано, что в Нр 1—1 содержится по одному насыщенному комплексу и по одному промежуточному комплексу, исходя из вышеописанного стало понятно, что в Нр 1—1 существуют два вида комплексов с неодинаковым количеством связанного гемоглобина. А в Нр 2—2 были установлены промежуточные комплексы 2, 3, 4 — в порядке компонентов возрастающей в сторону анода электрофоретической подвижности.

С одной стороны, как это иллюстрируется на рис. 2.9, стало ясно, что в гетерозиготном Нр 2—1 в порядке компонентов I, II, III, помимо соответствующего одного насыщенного комплекса, имеются I, II, III комплексы, а в числе наблюдаемых промежуточных комплексов — увеличивается по одному комплексу на каждый. А именно выяснилось, что существует комплекс Нб—Нр с изменяющимся количеством связанного гемоглобина, причем в компоненте I их два вида, в компоненте II — три, в компоненте III — четыре вида. На этом основании невозможно было установить что-либо относительно компонентов с небольшой электрофоретической подвижностью, поскольку имеются пределы в возможностях разделения.

С другой стороны, в случае разделения структурных пептидов гаптоглобина на отдельные α -цепь и β -цепь только последняя из них соединяется с гемоглобином. Поэто-

Рис. 2.10.

Электрофореграмма белков гаптоглобина в крахмальном геле и их молекулярная структура (Огава и др., 1970).



му, согласно мнению авторов (Kawamura et al., 1972a, 1972b) о стандартных типах соединений гемоглобина с гаптоглобином, в основном стало ясно лишь то, что β -цепь гаптоглобина и $\alpha\beta$ -цепь гемоглобина соединяются только с помощью своих α -цепей. Следовательно, следует полагать, что компонент Hr 2—1 обладает двумя β -цепями, а ниже компоненты II, III аналогично обладают тремя—четырьмя β -цепями. Кроме того, как уже говорилось выше, известно, что основной структурой Hr для всех типов подряд является $(\alpha\beta)_n$.

Приняв вышесказанные результаты наблюдений за основу, авторы сделали следующее предположение о модели молекулярной структуры гаптоглобина. Как это иллюстрируется на рис. 2.10, все компоненты Hr 2—1 принимают последовательность согласно электрофоретической подвижности в сторону анода $(\alpha\beta)_2$, $(\alpha\beta)_3$, $(\alpha\beta)_4$,... На том же основании Hr 2—2 является группой белков, обладающей молекулярной структурой $(\alpha^2\beta)_3$, $(\alpha^2\beta)_4$, $(\alpha^2\beta)_5$..., поэтому единица полимеризации, о которой до сих пор существовали различные теории, как это и предполагали Sutton и Кагр, является субъединицей $\alpha\beta$.

Далее, чтобы проверить правильность данной модели, была сделана попытка определить молекулярный вес I, II, III компонентов Hr 2—1. Каждый из компонентов комплекса Hb—Hr был выделен при помощи электрофореза в полиакриламидном геле и ультрацентрифугирования, в результате чего был высчитан молекулярный вес. Было обнаружено, что молекулярный вес компонентов Hr 2—1—I, II, III соответственно равняется приблизительно 100 000, 150 000, 200 000, а белки Hr 2—1 представляют единицу в

50 000 (соответствует молекулярному весу субъединицы $\alpha\beta$), поэтому стало ясным, что они являются группой полимеров, молекулярный вес которых увеличивается ступенчато. Полученные на основании экспериментальных данных модели молекулярной структуры показаны на рис. 2.10. Что касается белков Нр 2—1 в целом, принадлежащих гетерозиготам, то несмотря на то, что α^1 -цепь и α^2 -цепь содержатся в равном количестве, пока все еще остается неясным, в каком соотношении грамм-молекул обе цепи содержатся в каждом из компонентов.

Точно так же, надо полагать, обстоит дело и с Нр 2—2: молекулярный вес 170 000, 230 000, 290 000 складывается из полимеризации белковых молекул. Следовательно, получается, что в компонентах Нр 2—1 и Нр 2—2 с небольшой электрофоретической подвижностью имеются огромные молекулы белков, молекулярный вес которых превышает 500 000—1 000 000. Таким образом, даже средний молекулярный вес, достигающий 250 000—300 000, в $2\frac{1}{2}$ —3 раза превышает соответствующий вес Нр 1—1.

Что касается биологического значения такого расхождения в молекулярных структурах, то хотя оно и касается физиологических функций гаптоглобина, однако все же в деталях оно остается еще недостаточно ясным. Кроме того, почти ничего неизвестно о механизме, предшествующем появлению таких групп полимеров.

Необходимо отметить, что ген Нр² является полимерным геном, поскольку группа полимеров существует исключительно у индивидов с Нр 2—2 и Нр 2—1. Хотя α^1 -цепь, являющаяся продуктом гена Нр¹, и не обладает способностью к самостоятельной полимеризации, α^2 -цепь, образующаяся из гена Нр², бесспорно, имеет отношение к формированию полимеров. α^2 -цепь, обладая молекулой, почти вдвойне превышающей размеры молекулы α^1 -цепи, в отличие от α^1 -цепи, которая обладает единственным центром связывания, имеет в своем составе два участка сцепления с дополнительным сродством. В связи с этим, поскольку α^2 -цепь в состоянии полимеризоваться еще и с α^1 -цепью, могут формироваться полимеры различных ступеней, которые и наблюдаются в Нр 2—2 и Нр 2—1.

Если принять такие соображения за справедливые, то прямое воздействие генов Нр¹ и Нр² должно распространяться впредь до возникновения α^1 - и α^2 -цепей, а последующее формирование полимеров, пожалуй, следует рассматривать как отдаленный эффект. Вместе с тем, очевид-

но, нельзя полностью отрицать и взаимодействие между генами, а также и тот факт, что гены, находящиеся в других локусах, оказывают какое-то влияние на эти полимеры.

д. Физиологические функции гаптоглобина

Что касается физиологических функций гаптоглобина, то множество опубликованных работ как в области биохимии, так и в области клиники можно подразделить на две следующие категории. В первой из них рассматривается способность гаптоглобина образовывать специфические соединения с гемоглобином. Вторая посвящена проблеме, привлекающей к себе за последние годы интерес, а именно, роли Нр как реактивного белка острой фазы заболеваний. Однако следует отметить, что в каждом из этих аспектов все еще отмечается немало явлений, содержащих множество необъяснимых моментов. В частности, вопрос о том, в какой мере отражаются различия в молекулярной структуре между фенотипами Нр на физиологических функциях, продолжающий представлять объект глубокого интереса для биохимической генетики, нужно сказать, все еще почти не разрешен.

1) Функции образования комплекса с гемоглобином

Издавна имелось предположение, что способность Нр при соединении с гемоглобином образовывать стабильные комплексы даже *in vivo* имеет самое непосредственное отношение к обмену гемоглобина и эритроцитов. Имеются сообщения о том, что содержание гаптоглобина в сыворотке крови при различных болезненных состояниях изменяется. В частности, при гемолитической анемии и гемохроматозе, а также при других заболеваниях, сопровождающихся ускорением гемолиза в кровеносных сосудах, концентрация гаптоглобина в крови заметно снижается или отсутствует.

Laurell с сотр., экспериментально вводя внутривенно гемоглобин, подтвердили, что выделение гемоглобина с мочой происходит только после насыщения всего гаптоглобина плазмы крови. Таким образом, почечное пороговое значение гемоглобина, которое раньше было принято считать неопределенным, отнюдь не объясняется лишь способностью почечных канальцев к реабсорбции, но в первую очередь определяется способностью гемоглобина связы-

ваться с гаптоглобином. Следовательно, можно утверждать, что одной из ролей, осуществляемых гаптоглобином в организме, является связывание гемоглобина, который в свободном виде способен легко проникать сквозь почечные клубочки и выделяться с мочой.

Гемоглобин, который выделяется в кровоток в результате распада эритроцитов, благодаря связыванию с гаптоглобином не выделяется из организма и, таким образом, не утрачивается. Повторное использование железа Нв в организме препятствует возникновению дефицита железа. Кроме того, экспериментально было показано, что прошедший через почечные клубочки свободный гемоглобин, а также продукты его расщепления осаждаются в мочевых канальцах и вызывают нарушения функции ткани почек. Поэтому функциональная роль гаптоглобина заключается также в предупреждении такого рода патологических нарушений.

Следует полагать, что, вероятно, при формировании комплекса гемоглобина с гаптоглобином основной причиной, препятствующей фильтрации сквозь почечные клубочки, является увеличение размера молекулы, которое происходит из-за соединения двух белков. Между белком Нр 1—1 с молекулярным весом 100 000 и белками Нр 2—1 и Нр 2—2, средний молекулярный вес которых в $2\frac{1}{2}$ —3 раза больше, чем упомянутый, при сохранении нормальной функции почек, по-видимому, не наблюдается особых различий. Хотя позднее об этом будет говориться специально, может быть, здесь следует упомянуть, что по своей способности к связыванию с гемоглобином в плазме крови продукты действия гена Нр¹, вполне возможно, превосходят действие Нр².

Что же касается метаболизма комплекса Нв—Нр, то известно, что при внутривенном введении комплекса меченного ⁵⁹Fe, который служит маркером гемоглобина, большая его часть скапливается в печени. Ямаока и Накадзима с сотр. (1963) при помощи фермента, к которому добавлен кислород, называемого гем-α-метенил-оксигеназой, находящегося в надосадке гомогената печени животных, обнаружили, что гемовая часть гемоглобина может расщепляться на вещество — предшественник желчного пигмента, и при этом свободный гемоглобин, почти не распадаясь, связывается с гаптоглобином и уже затем подвергается распаду.

Далее, хотя это относится к экспериментам *in vitro*, процесс ферментативного расщепления гемоглобина, присоединившегося к Нр 2—2, имеет бóльшую начальную скорость реакции, чем комплексы Нр 2—1 и Нр 1—1. Такое приобретение свойства подвергаться расщеплению, а также свойство дифференцироваться в зависимости от типа Нр все еще остаются непонятными в деталях, хотя и предполагается, что существует зависимость между трехмерными особенностями субстрата ферментативной оксигенации и различием в окислительно-восстановительном электрическом потенциале.

2) Функции реактивных белков острой фазы

Во время развития воспалительных процессов, а также при повреждении ткани (поверхностное ранение, послеоперационный период, инфаркт миокарда) или при коллагенозах содержание гаптоглобина в крови увеличивается по сравнению с обычным периодом в 2 раза и даже более. Экспериментально впрыскивая животным подкожно такие вещества, как скипидар и пр., вызывающие воспалительные процессы, а также вводя ферменты, расщепляющие белки, наблюдали, что после того, как было спровоцировано воспаление или вызвано повреждение ткани, в течение короткого периода в первые 2—3 дня после инъекции концентрация Нр в крови увеличивается более чем в несколько раз.

Помимо того, увеличивается и количество белков в плазме крови, таких, как, например, относящийся к полиморфным белкам α_2 -кислый-гликопротеид и α_1 -антитрипсин. Такого рода белки называются реактивными белками острой фазы заболевания и в химическом смысле так или иначе относятся к гликопротеидам, причем гаптоглобин является типичным примером таких белков.

Стремительное повышение концентрации гаптоглобина в крови, отмечаемое во время воспалительных процессов и тканевых повреждений, объясняется как результат ускорения биосинтеза этого белка, который происходит в основном в печени. Однако что касается физиологического значения данного явления, то тут все еще остается много неясных моментов. Предполагается, что разрушение ткани имеет глубокую взаимозависимость с восстановлением и ростом. Так, например, Jaule с сотр. после нанесения крысам тканевых повреждений и внутривенного введения

нагрузки в виде маркера Нр опубликовали результаты, наводящие на мысль, что Нр концентрируется в участке ранения и, кроме того, Нр, в частности его сахаристая часть, используется в качестве строительного материала для роста ткани (Jayle et al., 1970).

Snellman и Sylven утверждают, что Нр обнаруживает *in vitro* очень сильное конкурентное ингибиторное воздействие по отношению к катепсину В, являющемуся расщепляющим ферментом тканевых белков (этот фермент не расщепляет Нр). Они полагают, что катепсин В в период воспалений и тканевых повреждений, по всей вероятности, в больших количествах выделяется из тканей. Однако неизвестно, тормозит ли увеличившийся в количестве гаптоглобин расщепляющее воздействие катепсина аналогичным образом *in vivo*. Следует отметить, что эти сообщения приводились в качестве подтверждения концепции о том, что гаптоглобин является фактором, связанным с защитным механизмом организма. В будущем научные исследования в данной области прояснят тончайшие механизмы, и позднее, следует надеяться, выяснится также вопрос: имеются ли различия в подобных функциях в зависимости от типов Нр?

Итак, в связи с этим авторы добились результатов, смыслом которых было выяснение типовой зависимости Нр в организме от наследственности. Проверив круговорот гаптоглобина на примере многих людей, они пришли к выводу, что у человека период полураспада в крови, если исключить примеры ускорения гемолиза, занимает почти 3—4 дня. Однако в молекулярных структурах, не считая первичной структуры, в частности, даже независимо от того, что в полимеризационных структурах происходят значительные изменения, типы Нр в этих экспериментах почти не рассматривались.

Поскольку Нр обнаруживает функции реактивного белка в острой фазе заболевания, синтезированный в печени и поступивший в кровь гаптоглобин концентрируется в участках, где происходят воспалительные процессы или имеются поражения ткани. В таком случае перемещение гаптоглобина в полости, находящиеся вне кровеносных сосудов, очевидно, должно так или иначе служить необходимым предварительным условием.

Для этой цели домашнему кролику была внутривенно введена нагрузка Нр 1—1 и Нр 2—2 с маркерами радиоактивного йода (^{131}I и ^{125}I) и было установлено их рас-

предельно
возрастает
подраздела
пределение
обнаружили
лярный вес
чем Нр 2—2
белков. Очеви
ляров скорее
белковых моле
структур обон
еще более шир
нов и их анали
ческое значени

У здорового
ротке крови об
причем у иден
величинах этой
Хотя это колич
зависимости от
ным разных ал
распределяется
причем у разных
ся довольно зп
телях.
Содержание
ется, причем ни
ко у новорожд
это происходит
ган, синтезиру
витой, синтези
это объясняет
после рождения
глобина. Дале
известно, что
начала от мат
ся много сооб
Связыва

пределение в организме. При этом не было замечено расхождений между двумя типами гаптоглобина в период полураспада в крови и т. д. Однако, когда проследили распределение Нр в полостях, находящихся вне сосудов, то обнаружили, что Нр 1—1, имеющий небольшой молекулярный вес, совершенно очевидно, перемещается легче, чем Нр 2—2, который включает группы более полимерных белков. Очевидно, такое различие в проницаемости капилляров скорее происходит из-за неодинаковой величины белковых молекул, чем из-за несоответствия первичных структур обоих белков. Однако в дальнейшем, в процессе еще более широкого применения однородных гаптоглобинов и их анализа, хотелось бы взвесить также их биологическое значение.

2.5. СПОСОБЫ ИЗМЕРЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГАПТОГЛОБИНА В КРОВИ

У здорового взрослого человека количество Нр в сыворотке крови оказывается почти постоянной величиной, причем у идентичных индивидов невелики отклонения в величинах этой нормы в зависимости от времени суток. Хотя это количество до некоторой степени варьирует в зависимости от способов измерения и неодинаково по данным разных авторов, у здорового взрослого человека оно распределяется в границах 40—180 мг/100 мл Нв. В. С.¹, причем у разных индивидуумов, по-видимому, наблюдаются довольно значительные расхождения в таких показателях.

Содержание Нр в сыворотке крови с возрастом изменяется, причем низкий процент Нр может быть выявлен только у новорожденных, до 10—20%. Принято считать, что это происходит из-за того, что печень новорожденного (орган, синтезирующий гаптоглобин), будучи еще недоразвитой, синтезирует его лишь в небольших количествах, или это объясняется ускорением распада эритроцитов до и после рождения, что связано с повышением расхода гаптоглобина. Далее, в результате определения типов Нр стало известно, что Нр новорожденного вовсе не берет своего начала от матери, а синтезируется самостоятельно. Имеется много сообщений о том, что впоследствии содержание

¹ Связывающая способность Нв.

Нр постепенно увеличивается и через 1—2 года после рождения почти приближается к показателям Нр у взрослых.

Несмотря на то что результаты, полученные при изучении монозиготных близнецов, наводят на мысль о генетическом контроле содержания Нр в крови, тем не менее объектом интереса становится вопрос: существуют ли различия между фенотипами гаптоглобина, в частности, в концентрациях гаптоглобина в крови здоровых взрослых людей. По этому вопросу имеется много научных сообщений.

Определяемое измеренное значение Нр в любом случае представляет собой результат измеренной способности гемоглобина к связыванию в расчете на 100 мл сыворотки крови. Numan, как известно, показал для европейцев следующие значения: Нр 1—1 — 136 ± 30 ; Нр 2—1 — 108 ± 37 ; Нр 2—2 — 82 ± 34 , причем для Нр 2—2 обнаружены более низкие значения по сравнению с двумя другими типами гаптоглобина. Smith и Owen аналогично опубликовали для европейцев соответственно для типов гаптоглобина Нр 1—1, Нр 2—1, Нр 2—2: 104 ± 34 , 102 ± 37 , 72 ± 38 , т. е. так же низкие значения гаптоглобина для типа Нр 2—2. Karp и Sutton, проведя обследование африканского населения в США, не выявили различий в концентрации Нр 1—1 и Нр 2—1 и определенного снижения показателя Нр 2—2. У японского исследователя Ямагути, как это иллюстрируется на рис. 2.11, получились значения: Нр 1—1 — 94 ± 22 ; Нр 2—1 — 80 ± 13 ; Нр 2—2 — 58 ± 15 , причем среди трех типов между типами 1—1 и 2—2, а также между типом 2—1 и типом 2—2 отмечена четкая разница (Ямагути, 1961). Почти идентичные результаты опубликованы и в исследованиях Мацунага с соотр.

Таким образом, у многих рас не существует различий в содержании Нр в крови между Нр 1—1 и Нр 2—1. Однако среди носителей гомозиготности Нр²Нр² чаще, чем у индивидов, обладающих одним и двумя генами Нр¹, содержание Нр в крови ниже. Предполагается, что ген Нр¹ по сравнению с Нр² превосходит последний по своей способности связываться с гемоглобином. Вместе с тем непосредственно вслед за этими результатами возникает чрезвычайно важный вопрос: можно ли истолковать это явление как более высокую способность первого из них производить гаптоглобин?

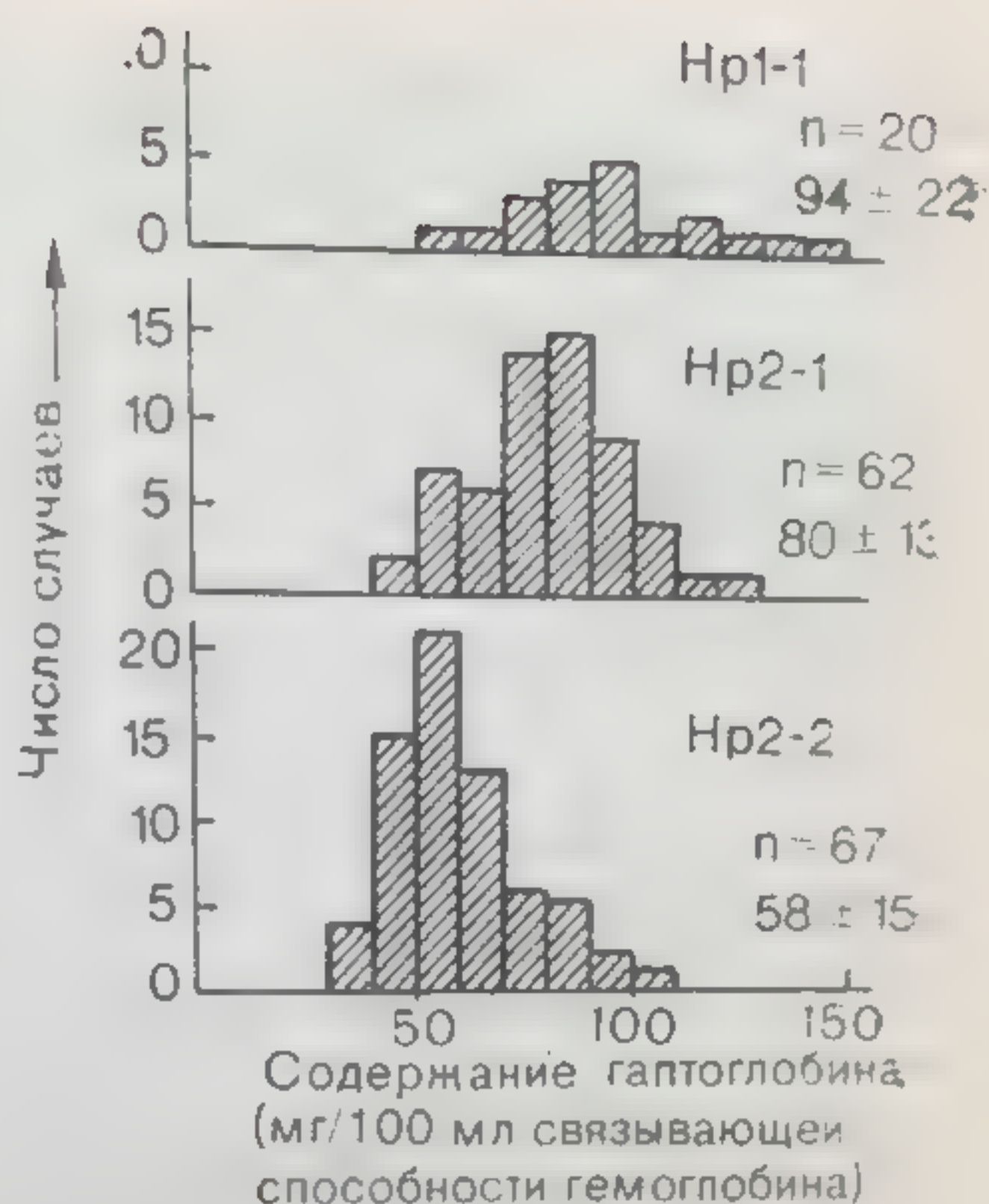
Следует сказать, что остается еще два проблемных момента, о которых будет сообщено ниже.

Рис. 2.11.
Содержание Нр в
здоровой сыворотке
мои разданы по
группам.

Первый момент
которое мы опреде
собой результат
щегося синтеза и
вероятности, нел
круговорот Нр в
типов Нр. Второй
рений. Опубликов
чае представляют
как таковое, по
связыванию с ге
ны принципы ме
ния, а также буд
ющих проблем.
Хотя и желат
делить содержа
это трудно. Поэ
мени способы та
ния с учетом то
ходит в соответс
во внимание рас
ических харак
измеряется ге
Нр связывается
жается количес
единицы к

Рис. 2.11.

Содержание Нр в крови здорового взрослого человека, рассматриваемое отдельно по типам Нр (Ямагути, 1961).



Первый момент — это то, что количество Нр в крови, которое мы определяем при помощи анализа, представляет собой результат сбалансированного ежеминутно изменяющегося синтеза и скорости катаболизма, поэтому, по всей вероятности, нельзя также отрицать, что метаболический круговорот Нр в крови тоже изменяется в зависимости от типов Нр. Второй момент — это проблема способов измерений. Опубликованные величины измерений в любом случае представляют собой не только содержание Нр в крови как таковое, но и результат вычисления способности к связыванию с гемоглобином. Ниже будут коротко изложены принципы методов измерения и виды средств измерения, а также будет сделана попытка коснуться существующих проблем.

Хотя и желательно непосредственно химически определить содержание Нр, тем не менее на настоящем этапе это трудно. Поэтому опубликованные до последнего времени способы так или иначе представляют собой измерения с учетом того факта, что соединение Нр с Нб происходит в соответствии с законами стехиометрии, принимая во внимание расхождения в биологических или физико-химических характеристиках между комплексом Нб—Нр и свободным гемоглобином. Следовательно, получается, что измеряется не количество Нр как таковое, а способность Нр связываться с Нб. Поэтому и единица измерения выражается количеством Нб (мг), которое в состоянии присоединиться к Нр, присутствующему в 100 мл раствора

(сыворотки крови и т. д.); иными словами, выражается связывающей способностью Hb на мг/100 мл (связывающей способности Hb).

В настоящее время существуют два разных способа, применяемых для анализа Hр: ферментный способ (пероксидазный способ) и метод электрофореза. Пероксидазный способ заключается в том, что в кислом растворе с рН 4,5—4,7 пероксидазная активация комплекса Hb—Hр становится максимальной и используется явление, когда содержание свободного Hb почти приближается к 0. К сыворотке крови (собранный для эксперимента таким образом, чтобы не произошло гемолиза) добавляют определенное количество гемоглобина, перекись водорода и гваякол, затем, спустя определенное время после реакции, содержание тетрагваякола, образовавшегося благодаря окислению гваякола, определяют на фотоэлектроколориметре и, исходя из ферментативной активации, вычисляют связывающую способность гемоглобина. Такой несложный способ был недавно опубликован Owen.

Электрофоретический метод по Laurell с использованием различий в электрофоретической подвижности между комплексом и свободным гемоглобином достаточно изучен и в настоящее время имеет самое широкое применение. Если в сыворотку крови добавлять гемоглобин известной концентрации, постепенно увеличивая его количество, в конце концов, когда содержание гемоглобина превысит связывающую способность Hр, обнаружится электрофоретическая зона оставшегося в излишке свободного гемоглобина. Так, например, если в 50 мг/100 мл гемоглобина выявится только одна единственная электрофоретическая зона Hр—Hb, а при 75 мг/100 мл будет обнаружена зона свободного гемоглобина, то содержание Hр окажется между 50—75 мг/100 мл связывающей способности гемоглобина. Если при этом способе одновременно использовать денситометрию, то операции еще более упростятся, определение связывающей способности гемоглобина не будет ограничено рамками, и ее можно будет измерить более точными численными значениями (Hb B. C.). Кроме того, можно будет снизить на несколько процентов погрешности в измерениях, а также появится возможность измерить микросодержание Hр в пределах 10 мг/100 мл связывающей способности гемоглобина.

Связывающая способность гемоглобина, измеренная при помощи вышеописанного принципа, как уже говорилось

выше, предусматривает, что Hр и гемоглобин, связывающиеся друг с другом, образуют комплекс Hр—Hb, что касается молекул Hр, обладающих высокой молекулярной массой, то их количество в сыворотке крови незначительно. Следовательно, в сыворотке крови незначительно содержится Hр, что и объясняет, почему в методах Hр 2—2, обладающих высокой молекулярной массой, из-за высокой вязкости сыворотки, если в сыворотке содержится небольшое количество Hр, то очевидно, под действием Javid. Последнее время для определения содержания Hр в сыворотке крови используется метод Kluthe с использованием метода для анализа содержания гемоглобина в сыворотке крови, который основан на различии в скорости осаждения в центрифуге сыворотки, содержащей Hр, и сыворотки, содержащей только гемоглобин. Этот метод требует применения специального оборудования.

выше, предусматривает в качестве предварительного условия, что Нр и гемоглобин связываются стехиометрически, т. е. связывается по 1 грамм-молекуле обоих белков. Для Нр 1—1 это было подтверждено экспериментально, однако, что касается Нр 2—2 и Нр 2—1, то они являются полимерами, поскольку существует также высокомолекулярный Нр, обладающий молекулярным весом до нескольких сотен тысяч, что почти в несколько раз превышает молекулярный вес Нр 1—1. Javid, сравнивая гаптоглобин, обладающий таким большим молекулярным весом с такими малыми молекулами, как Нр 1—1 и т. п., обнаружил, что связывающая способность гемоглобина в расчете на молекулу белка Нр постепенно снижается, и высказал предположение, что неспособность к стехиометрическому связыванию происходит из-за препятствий в конформации белковых молекул.

Следовательно, при сравнении содержания Нр в сыворотке крови независимо от фенотипов проблемы заключаются в методах измерения связывающей способности Нб. Нр 2—2, обладающий самым высоким средним молекулярным весом, из-за низкой связывающей способности Нб не в состоянии обусловить достаточное связывание Нб, в особенности если непосредственное содержание Нр в крови низкое. Таковы опубликованные результаты, которые, как очевидно, подтверждают имеющиеся данные Giblett и Javid.

Последнее время, когда в нашем распоряжении появился метод иммунодиффузии, который широко применяется для определения содержания белков плазмы крови, появилась возможность непосредственно вычислять не связывающую способность Нб, а непосредственно содержание Нр. Kluthe с сотр., также применив иммунологический метод для анализа сыворотки крови, сообщили, что показатели содержания Нр и связывающей способности Нб хорошо коррелируют при любом типе Нр. Между тем в белках с различной первичной структурой и степенью полимеризации, в связи с тем что здесь предполагаются еще и различия специфической антигенной структуры и расхождения в состоянии диффузии в агаровом геле и т. д., сравнительные измерения концентраций в крови по отдельным типам Нр могут различаться и в дальнейшем еще потребуют фундаментальных исследований.

Географическое распределение генов гаптоглобина

Гаптоглобин по сравнению с ферментными и прочими белками представляет собой сравнительно стабильный белок, который можно на основе гелевого электрофореза легко определять в небольших количествах сыворотки крови. В связи с этим прилагаются усилия обследовать разбросанные по всему миру расы, и уже насчитывается по этому поводу свыше 200 научных сообщений. В числе полиморфных отличительных признаков H_r является одним из наиболее изученных по распределению частоты гена. Рассматривая имеющиеся на сегодняшний день сообщения, убеждаемся, что явление полиморфизма наблюдается среди всех обследованных районов и популяций, и это в качестве показательного генетического маркера служит источником ценнейшей информации для популяционной генетики, антропологии и других наук.

Согласно мнению Kirk и Giblett, основанному на анализе 200 с лишним сообщений, в распределении частоты гена Нр, как это иллюстрируется рис. 2.12 (не считая тех исключений, когда частота наблюдалась в некоторых изолированных популяциях), наблюдаются совершенно определенные тенденции если не в зависимости от расы, то в зависимости от территориального расположения.

Однако, как указывают те же исследователи, для определения фенотипов Нр необходимо такое содержание Нр в крови, которое превышало бы установленную концентрацию. В примерах с Нр, не считая наследственной агаптоглобинемии или же гипогамптоглобинемии, содержание Нр в плазме крови значительно падает из-за привходящих причинных факторов, таких, как гемолитические заболевания, хронические нарушения функции печени и т. д. Поэтому иногда определение типа становится затруднительным, и в этих случаях он определяется как НрО. Следовательно, в вопросе о том, как следует трактовать тип НрО, все еще остается много проблемных моментов. Если таких индивидов окажется меньше нескольких процентов от общего числа, то они исключаются из общего числа. Вместе с тем необходимо быть очень внимательными в отношении интерпретации генной частоты в таких случаях, как, например, сообщения о более 10% обладателей типа НрО среди выходцев из африканских территорий и с островов Тихого океана.

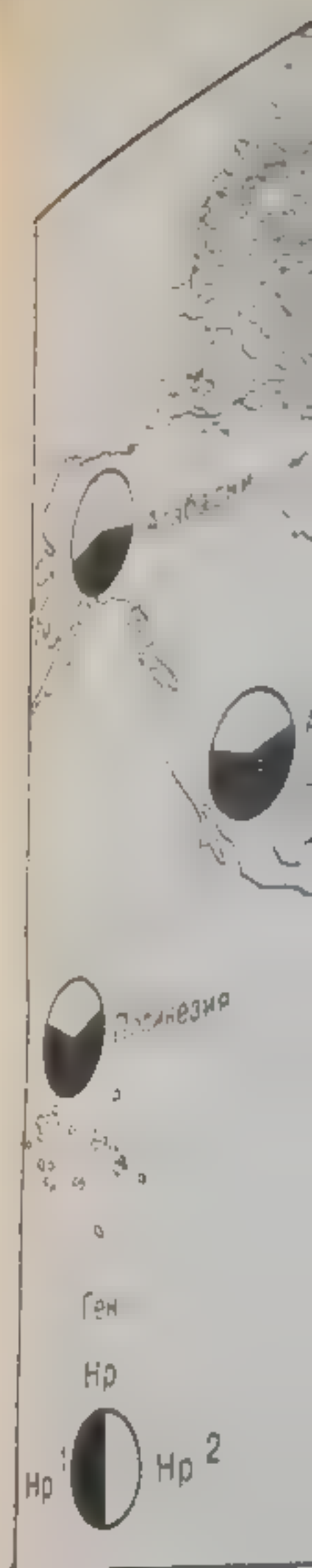


Рис. 2.12. Георгий
1968)

Теперь, когда порайонно (с о многочислен где большинство Что касается (Matsunaga фильной исс щения (рук сюда также такая же ге дев, то, хотя шие за гра высокой ге генная част Индии, то в частоты — (имеется не племени то территории от тельные от На евро чти на все

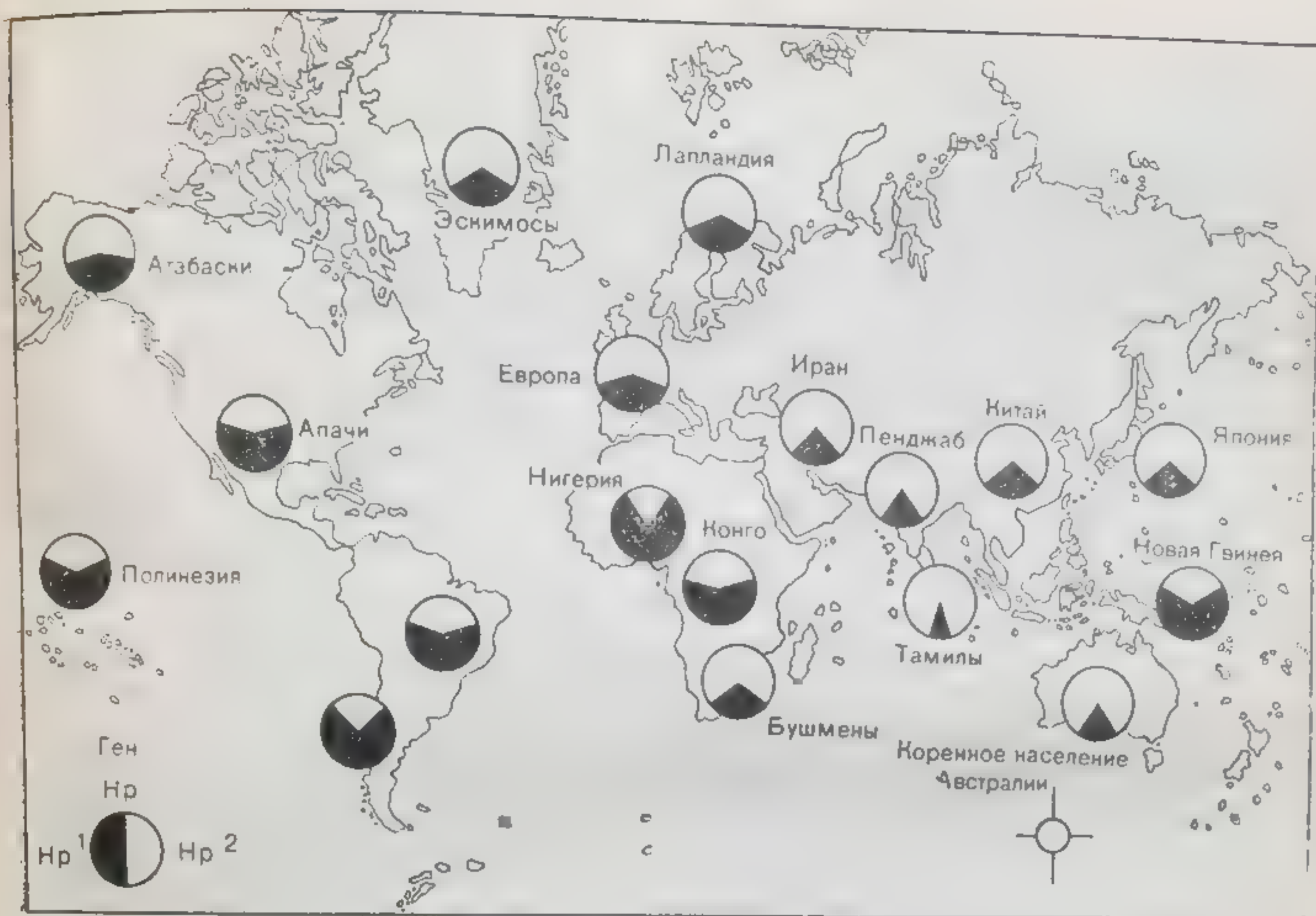


Рис. 2.12. Географическое распределение генов Hr^1 и Hr^2 (Kirk, 1968).

Теперь, когда генная частота Hr^1 будет рассматриваться порайонно (см. рис. 2.12), прежде всего будет говорить о многочисленных расах, населяющих территорию Азии, где большинство людей имеет около 0,25 генной частоты. Что касается японцев, то, по данным Мацунага с сотр. (Matsunaga и Murai), Ямагути (1961), а также многопрофильной исследовательской группы Министерства просвещения (руководитель группы Мацунага Эй), включая сюда также народность айну, была опубликована почти такая же генная частота: около 0,25. Что касается китайцев, то, хотя были обследованы индивиды, иммигрировавшие за границу (не считая проживающих в Гонконге с высокой генной частотой в 0,40), у большинства из них генная частота составляет около 0,25. Что же касается Индии, то вначале сообщалось о низких значениях генной частоты — 0,10. Однако, хотя вполне вероятно, что там имеется немало людей с низкой генной частотой Hr , у племени тода она составляет 0,35. Вследствие обширности территории в частоте гена тоже могут наблюдаться значительные отклонения.

На европейском континенте, и это распространяется почти на все виды рас, частота гена большей частью прибли-

жается к значениям 0,35—0,43, что превышает генную частоту на азиатских территориях и является более низким показателем, чем у африканцев, т. е. представляет собой промежуточную генную частоту между этими двумя континентами. И только в Лапландии — 0,32 и в Южной Италии — 0,32, что является довольно низким показателем частоты гена.

На территории Африки встречается много людей с частотой гена Hr^I — 0,60—0,70, что по сравнению с другими территориями является самой высокой частотой. Однако имеются также сообщения о низкой частоте гена у коренного населения Эфиопии — 0,40, бушменов Южной Африки — 0,30, а также частично у представителей других племен и народностей.

На американском континенте эскимосы своим показателем частоты гена в 0,30 приближаются к азиатским народностям. Поскольку частота гена Hr^I у американских индейцев высокая — в Северной Аляске — 0,40, на территории Южной Америки — 0,75, это вызывает значительный интерес: не существует ли здесь географического градиента признаков. Однако по ходу исследований стали появляться также сообщения, указывающие на ряд исключений.

Последнее время в районах Тихого океана, как бы отражая этническую изменчивость, что совершенно естественно, отмечаются некоторые расхождения и в частоте гена Hr . Коренное население Австралии, несмотря на свое приближение по частоте гена — 0,17 — 0,24 — к азиатским народностям, на большей части территории характеризуется индивидами с высокой частотой гена Hr . И это, очевидно, указывает, что такая частота гена скорее тяготеет к районам Южной Африки, чем к районам азиатского континента.

Далее, как уже отмечалось, в гене Hr^I имеются два вида генов с аллельной зависимостью — Hr^{IF} и Hr^{IS} , а для того, чтобы говорить о частоте этих генов, необходимо проводить электрофорез в особых условиях, что до последнего времени не осуществлялось.

На рис. 2.13 иллюстрируется распределение обоих генов в виде диаграммы, из которой с первого взгляда становится ясным, что в частоте гена Hr^{IF} даже по сравнению с частотой гена Hr^{IS} имеются значительные различия.

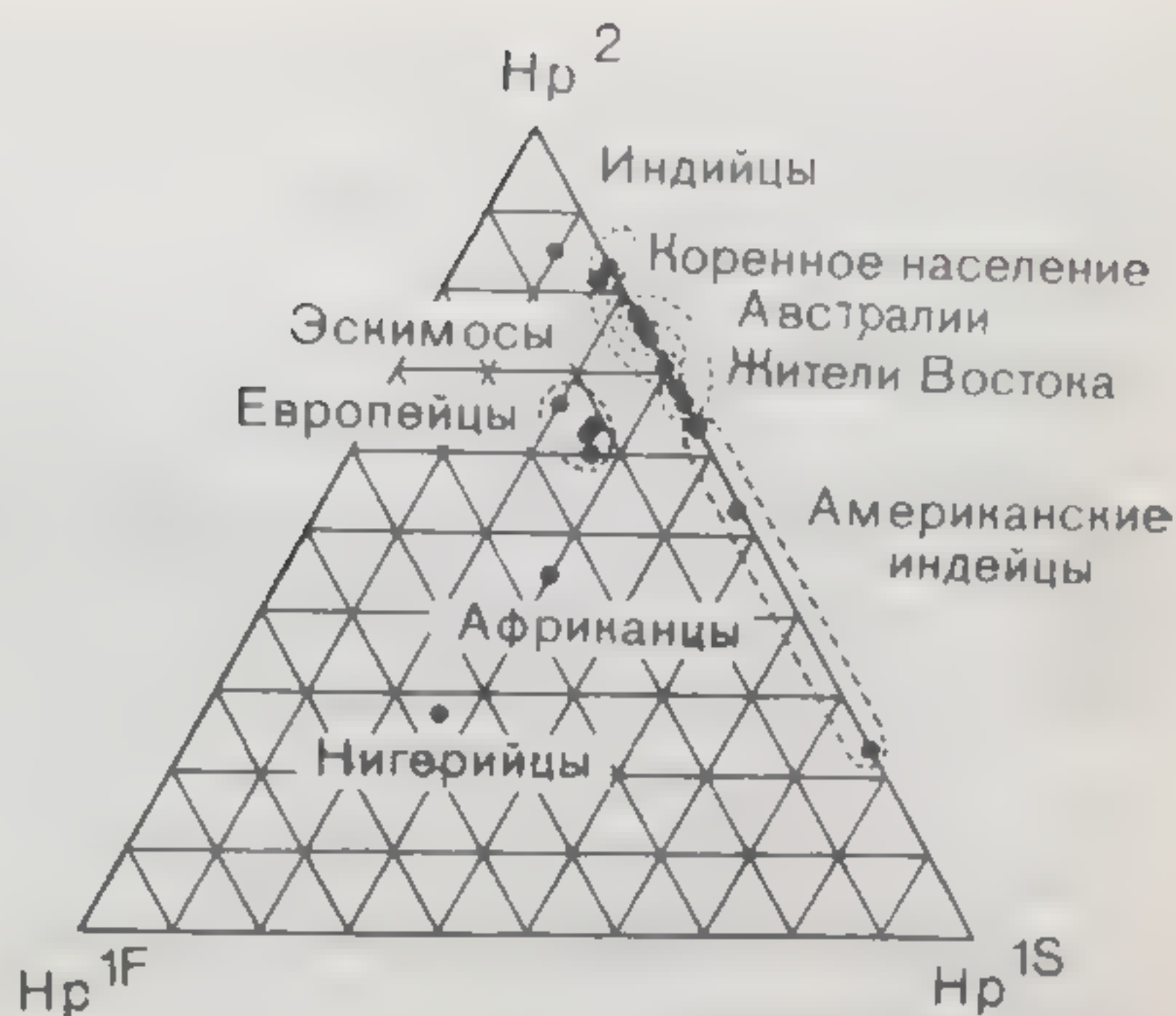
У жителей Востока, включая японцев, у американских индейцев и коренного населения Австралии ген Hr^{IF} поч-

рис. 2.13.
Распределе
 Hr^{IF} и Hr^{IS}

ти не рас
территори
одно обсле
тота гена
 Hr^{IS} . Пом
гена Hr^{IF}
также пред
Следовател
высокая ча
 Hr^{IF} колеб
цев более
 Hr^{IS} : Hr^{IF}
Каким пу
довые разли
вопрос о сп
и других пр
но непонят
сохранения
ние климат
ию в троп
таких, как
гемоллиз.
Sutton ве
рует факт с
пределении
предположи
глобала в
воздействие
специфичес
аля при уд

Рис. 2.13.

Распределение генов Hr^{1F} , Hr^{1S} и Hr^2 (Sutton, 1970).



ти не распространен. Вместе с тем, хотя на африканской территории, в районе Нигерии, было проведено всего лишь одно обследование, была обнаружена очень высокая частота гена Hr^{1F} — 0,47, что превышает даже частоту гена Hr^{1S} . Помимо того, у американских африканцев частота гена Hr^{1F} 0,26, что по сравнению с другими территориями также представляет более высокие численные значения. Следовательно, предполагается, что в районах Африки высокая частота гена Hr^{1F} . У европейцев частота гена Hr^{1F} колеблется от 0,12 до 0,14, и в отличие от африканцев более высокой частотой отличается ген Hr^{1S} , так что $Hr^{1S} : Hr^{1F}$ почти как 2 : 1.

Каким путем выяснить до конца территориальные и видовые различия такой частоты гена Hr , как ответить на вопрос о способе сохранения полиморфности, так же как и других признаков, — в настоящее время все еще конкретно непонятно. Allison, например, рассматривая механизм сохранения полиморфности Hr , придает серьезное значение климатическим условиям, в частности распространению в тропических зонах инфекционных заболеваний, таких, как малярия и другие заболевания, вызывающие гемолиз.

Sutton высказывает соображения, в которых акцентирует факт существования некоторой параллельности в распределении гена Hr^1 с распределением гена $Hb S$. Если предположить, что низкая связывающая способность гемоглобина в крови связана с каким-либо неблагоприятным воздействием на обмен веществ в организме, то условиями специфической мутабельности, легко вызывающей гемолиз при упомянутых заболеваниях, вполне объяснимы как

предположение о низкой адаптации к последовательности $Hr^2 Hr^2$, $Hr^2 Hr^1$, так и механизм, предшествующий взаимно связанному повышению частоты гена Hr^1 . Кроме того, на большей части территорий, не считая Африки, частота гена Hr^2 постепенно увеличивается. Однако здесь имеются еще такие соображения: не происходит ли это за счет значительного давления естественного отбора на ген Hr^1 при весьма незначительном давлении естественного отбора на ген Hr^2 , что соответственно порождает снижение частоты гена Hr^1 . Очевидно, нельзя также игнорировать и вероятность такой же высокой степени адаптации гетерозигот к Hr , как и в отношении других отличительных признаков.

И далее: недавно Sutton выдвинул теорию, объясняющую историю происхождения частоты гена Hr . Согласно этой теории, в течение какого-то периода времени гены Hr^{1S} и Hr^{1F} с частотой 0,25 и 0,75 от природы имели широкое распространение среди людей. Позднее в некоторых районах Азии в результате мутации появился ген слияния Hr^{2FS} . Частота этого гена благодаря естественному отбору стала постепенно увеличиваться, а вместе с этим расширилось и его географическое распространение. Помимо того, давление естественного отбора на ген Hr^{1F} геном Hr^{2FS} довольно значительно, поэтому ген Hr^{2FS} был заменен геном Hr^{1F} . Однако ничего подобного не произошло с геном Hr^{1S} : предполагается, что он сохраняется благодаря естественному отбору. Кроме того, в районах Азии такая благоприятная ситуация продолжалась дольше, чем везде, поэтому замена гена Hr^{1F} геном Hr^{2FS} , очевидно, произошла почти полностью. С другой стороны, в Европе и Африке, а также в других районах в настоящее время все еще происходит процесс замены Hr^{1F} на Hr^{2FS} . Поэтому имеется гипотеза: может быть этот процесс в районах Африки наиболее запоздалый?

Заключение

Здесь в основном были кратко изложены все современные знания о гаптоглобине, являющемся типичным полиморфным биохимическим отличительным признаком.

Хотя в наши дни мы уже располагаем научными сообщениями почти о 30 видах ферментов и функциональных белков, выступающих в качестве полиморфных отличительных признаков

тельных признаков, тем не менее бóльшая их доля представляет собой объекты, выявленные с помощью электрофореза и других способов, которые ограничиваются пока компонентами крови и плацентарными ферментами, легко доступными для взятия проб. Несмотря на то что Lewontin и Harris с сотр. в результате своих исследований сделали предположение о том, что в генных локусах, контролирующих синтез белков и ферментов, довольно часто проявляется полиморфность, следует упомянуть, что пока в лучшем случае обнаруживается лишь незначительная часть этих признаков. В дальнейшем, можно надеяться, будет найдена более усовершенствованная техника анализа.

Исследования в этой области все еще представляют собой новую отрасль науки, что связано с затруднениями в методике исследовательской работы, и, пожалуй, можно сказать, что в настоящей стадии мы находимся лишь на ступени изучения изменчивости как явления. Такого рода изменчивость обычно не имеет отношения к достоинствам или недостаткам аллельных генов и чаще всего лишь в состоянии заранее предопределить тип гена, что исходит непосредственно из фенотипа. Поэтому, помимо знаний о функциональных характеристиках гена как такового и о пороге генетического контроля над процессами выявления отличительных признаков, изменчивость привносит в биохимическую генетику человека еще и многие другие данные. Кроме того, в отличительных признаках, иллюстрирующих полиморфность, таких, как например, гаптоглобин, очень часто можно наблюдать несоответствия в распределении генной частоты, вызванные некоторыми определенными тенденциями. Такие различия в частоте генов служат средством для выяснения популяционных структур и расовых особенностей, представляя ценнейший материал для популяционной генетики и антропологии.

С одной стороны, предполагается, что вопросы, подобные тому: каким образом может завершиться распределение генов; при помощи какого механизма сохраняется полиморфность, — можно, очевидно, объяснить главным образом фактором адаптационного несоответствия фенотипов по отношению к окружающей среде. Объяснение наличия такого гена естественным отбором представляет собой важнейшую задачу, однако по этому вопросу почти не получено никаких конкретных сведений. Остро ощущается необходимость тесного сотрудничества между специа-

листами по молекулярной биологии и популяционной генетике.

В организме человека для его роста и поддержания жизненных процессов имеются разнообразные ферменты и функциональные белки, а число генных локусов, контролирующих их биосинтез, очевидно, исчисляется в нескольких десятках тысяч, причем предполагается, что почти в $\frac{1}{4}$ всех этих генных локусов наблюдается полиморфность. Значит, следует полагать, что абсолютно идентичных индивидов по сочетанию фенотипов ферментов и белков, за исключением монозиготных близнецов, почти не существует. Такая биохимическая индивидуальность, в прошлом представлявшаяся туманно, по-видимому, составляет основу всех представлений, которые мы вкладываем в понятие «предрасположение организма», или «конституция».

Какой смысл содержит в себе наличие у какого-либо определенного индивида фенотипа с полиморфными отличительными признаками, не считая поддержания гомеостаза в обмене веществ данного индивида? Проявит ли он различную реакцию в разных условиях окружающей среды, при всасывании элементов питания и медикаментозных средств, а также по отношению к стрессовым и иным патологическим факторам в сравнении с индивидом, обладающим другим фенотипом, — все это проблема, которую еще предстоит решать. Безусловно, следует непременно учитывать также взаимодействие и с другими генами. Если бы этот вопрос выяснился на молекулярном уровне, то это не только содействовало бы разгадке основных медицинских и биологических проблем, но еще и послужило бы ценнейшей информацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Allison A. C. 1959 Genetic control of human haptoglobin synthesis. — *Nature* 183: 1312—1314.
- Black J. A. a. G. H. Dixon 1968 Amino acid sequence of the alpha chains of human haptoglobins and their possible relation to the immunoglobulin light chains. — *Nature* 218: 736—741.
- Giblett E. R. 1969 Genetic markers in human blood. — Blackwell Scient. Publishers, Oxford.
- Harris H. 1966 Enzyme polymorphisms in man. — *Proc. Roy. Soc. B.* 164: 298—310.
- Harris H. 1969 Genes and isozymes. *Proc. Roy. Soc. B.* 174: 1—31.
- Harris H. 1970 The principles of human biochemical genetics. North-Holland Pub. Co., Amsterdam, London.

Jayle M. I.
of the
tissues.
Kawamura
ve unit
tion. —
Kawamura
of perox
human h
phys. Act
Matsunaga
lation. —
Nakajima H.
on heme
Ogawa A., S.
and physi
globin 2-1
Smithies O. a
and the g
695.
Smithies O., C
globin sub
Smithies O., C
rangements
196: 232—23
Sutton H. E. 19
Ямагути Мас
Фукуока ит

- Jayle M. F., P. Janiand, E. Engler a. J. Marcais 1970. Incorporation of the acute phase reactive sialoglycoproteins in granulomatous tissues. — *Proteides of the Biological Fluids* 18: 159—169.
- Kawamura K., S. Kagiya, A. Ogawa a. T. Yanase 1972a The reactive unit of hemoglobin in hemoglobin-haptoglobin complex formation. — *Biochim. Biophys. Acta* 285: 15—21.
- Kawamura K., S. Kagiya, A. Ogawa a. T. Yanase 1972b Kinetics of peroxidase activity, absorption spectra and oxygen affinity of human hemoglobin-haptoglobin 1-1 complexes. — *Biochim. Biophys. Acta* 285: 22—27.
- Matsunaga E. a. K. Murai 1960 Haptoglobin types in Japanese population. — *Nature* 186: 320—321.
- Nakajima H., T. Takemura, O. Nakajima a. K. Yamaoka 1963 Studies on heme α -methenyl oxygenase — *J. Biol. Chem.* 238: 3784—3796.
- Ogawa A., S. Kagiya, K. Kawamura a. T. Yanase 1970 Isolation and physicochemical characterization of the hemoglobin-haptoglobin 2-1 complexes — *Proc. Jap. Acad.* 46: 814—819.
- Smithies O. a. N. F. Walker 1956 Notation for serum protein groups and the genes controlling their inheritance. — *Nature* 178: 694—695.
- Smithies O., G. E. Connell a. G. H. Dixon 1962a Inheritance of haptoglobin subtypes. — *Amer. J. Hum. Genet.* 14: 14—21.
- Smithies O., G. E. Connell a. G. H. Dixon 1962b Chromosomal rearrangements and the evolution of haptoglobin genes. — *Nature* 196: 232—236.
- Sutton H. E. 1970 The haptoglobins. — *Prog. Med. Genet.* 7: 163—216.
- Ямагути Масая 1961 Генетическое исследование гаптоглобина. — *Фукуока игаку дзасси* 52:763—780.

Глава III

АНОМАЛИИ ГЕМОГЛОБИНА

3.1. ОТСУТСТВИЕ ЕДИНООБРАЗИЯ В СОСТАВЕ ГЕМОГЛОБИНА У ЧЕЛОВЕКА

Ограничен ли гемоглобин крови человека и животных только одним видом для каждого отдельного организма или же он представляет собой смесь двух или более видов компонентов? Примерно в начале нашего столетия считали, что гемоглобин имеет единообразный состав, свойственный всем видам животных. Правда, среди ученых, изучавших способность гемоглобина разных животных к кристаллизации и соединению с кислородом, встречались исследователи (Reichert и Brown, 1909; Douglas et al., 1912), ставившие под сомнение единый состав гемоглобина, но им недоставало фактов (Itano, 1959).

Что касается человека, то в конце прошлого столетия, или, возможно, даже раньше, привлек внимание факт, что гемоглобин плацентарной крови обладает свойствами, отличающимися от гемоглобина крови взрослого человека. И вот в 1866 г. Körber [если положиться на данные Krüger (1887)] заметил, что плацентарный гемоглобин труднее поддается денатурации под действием щелочей и кислот, чем гемоглобин крови взрослого человека, представив этот труд в Дерптский университет в качестве диссертации на соискание ученой степени. Затем в 1929 г. Naurowitz (1929) на основании своих кинетических наблюдений над щелочной денатурацией подтвердил это положение, показав также, что и крови новорожденного обнаруживается смешанный состав гемоглобина, включающий гемоглобин взрослого человека и фетальный гемоглобин. Фетальный гемоглобин образуется в период внутриутробной жизни, а подобное переходное состояние наблюдается после рождения человека, когда прекращается формирование фетального гемоглобина и еще не наступило переключение на выработку гемоглобина взрослого человека.

Если бы такое переключение прекратилось одномоментно, у взрослого человека стойко вырабатывался бы гемоглобин взрослого человека и, следовательно, состав этого гемоглобина был бы единообразным. Между тем где-то в середине нашего века появилось подряд 4 новых факта, которые поколебали это мнение.

(1) На Вестфальской медицинской конференции, проводившейся в Дюссельдорфе в 1948 г., Hörlein, в ту пору еще неопытный молодой врач, изучавший вместе со студентом-медиком Weber (1948) историю одной родословной, отмеченной наследственным цианозом, выступил со следующим научным сообщением. Осуществляя эксперимент повторного соединения глобина больного человека с гемом здорового человека, он доказал, что, несмотря на содержание в крови пациента соединения, напоминающего метгемоглобин, она содержит гемоглобин (один из вариантов метгемоглобина), который по существу отличается (содержит измененный глобин) от метгемоглобина, что и составляет патологию данного заболевания. Так выяснилось, что у человека может вырабатываться патологический гемоглобин, отличающийся от гемоглобина взрослого человека.

(2) В следующем году, т. е. в 1949 г., Pauling, Itano, Singer и Wells (1949), используя метод Tiselius, подвергли исследованию гемолизат (раствор гемоглобина, изготовленный добавлением H_2O в промытые эритроциты и превращением их в гемолизат) пациента, страдавшего серповидноклеточной анемией; до того времени считалось, что истинный характер этого заболевания неясен. Благодаря этому исследованию ученые выяснили, что компонент гемоглобина в этом гемолизате, явно отличающийся по электрофоретической подвижности от гемоглобина здорового человека (снижена подвижность, запаздывая, отклоняется в сторону анода), содержит в себе всего лишь один вид гемоглобина, и, кроме того, они обнаружили, что у кровных родственников пациента содержатся оба вида гемоглобина — гемоглобин с измененной степенью электрофоретической подвижности и гемоглобин здорового человека. Зная, что гем этого аномального гемоглобина идентичен гему нормального гемоглобина, ученые выяснили, что эта аномалия основывается на аномалии глобина. Особо отмечая, что этот гемоглобин отличается от гемоглобина здоровых людей, они впервые назвали этот аномальный гемоглобин Hb b, а в дальнейшем стали именовать его Hb S (Itano, 1959).

Открытие Pauling с соавт. явилось достижением исторического значения. Благодаря усилиям этих ученых было впервые выявлено, что в составе человеческого гемоглобина отсутствует единообразие, что у человека может вырабатываться как гемоглобин здорового взрослого человека, так и измененные виды гемоглобина, в результате чего человек заболевает. Сам по себе факт выяснения возможности выявлять при помощи электрофореза гемоглобин здорового взрослого человека и гемоглобин измененной природы в гемолизате оказался эффективным и, пожалуй, открыл путь к области изучения аномалий гемоглобина. И, действительно, когда появился новый метод электрофореза на фильтровальной бумаге, отличающийся значительной простотой по сравнению с методом электрофореза по Тизелиусу, и нашел себе практическое применение, в разных местах Земного шара один за другим стали выявляться измененные по электрофоретической подвижности формы гемоглобина, такие, как Hb A (гемоглобин здорового взрослого человека), Hb F (гемоглобин эмбриона), Hb S (аномальный гемоглобин при серповидноклеточной анемии) и другие Hb C, Hb D, Hb E... и т. д., получившие наименования в порядке букв алфавита (рис. 3.1).

(3) Как уже отмечалось выше, у человека в период появления на свет происходит перестройка в выработке гемоглобина: прекращается выработка фетального гемоглобина (Hb F) и начинается формирование гемоглобина взрослого человека (Hb A). Затем в годовалом возрасте такая перестройка завершается. Между тем Singer, Chernoff и Singer (1951) предложили новый способ фотоколориметрического анализа Hb F при различных рН и, пользуясь им, обследовали гемолизат пациентов, страдающих разными формами анемии. В результате этого они сделали сообщение о том, что гемоглобин взрослого человека состоит из Hb A (основной компонент, около 96%) и Hb F (микрокомпонент, приблизительно 3—4%), причем при некоторых видах острой анемии пропорции этого Hb F возрастают. Отсюда выяснилось, что гемоглобин крови взрослого человека не представляет собой единый унифицированный вид, в нем отсутствует единообразие.

(4) В 1955 г. Kunkel и Wallenius (1955) предложили новый метод электрофореза, а именно электрофорез в блоке крахмала и, подвергая гемолизат здорового человека анализу этим способом, выявили, что при этом обнаружи-

Рис. 3.1. Данные электрофореза
а — разделение
электрофореза
слева — к

дается 3 полосы
вижностью:

Hb A (его бу-
ным компонентом
Hb A₂ с исключи-
электрофоретиче-
большой компо-
вольно высокой
руживает более
форетическую п-
твердило досто-
в составе гемо-
(рис. 3.2). Пос-
гипохромная ми-
ся лечению преп-
содержание Hb A
целесообразно
Hb A₂. Кроме то-
явить степень и-
ности методом э-
что состав гемо-
грамме искажает
Позднее, когда
ли его на некото-
Hb A₃ (которая
становится то-

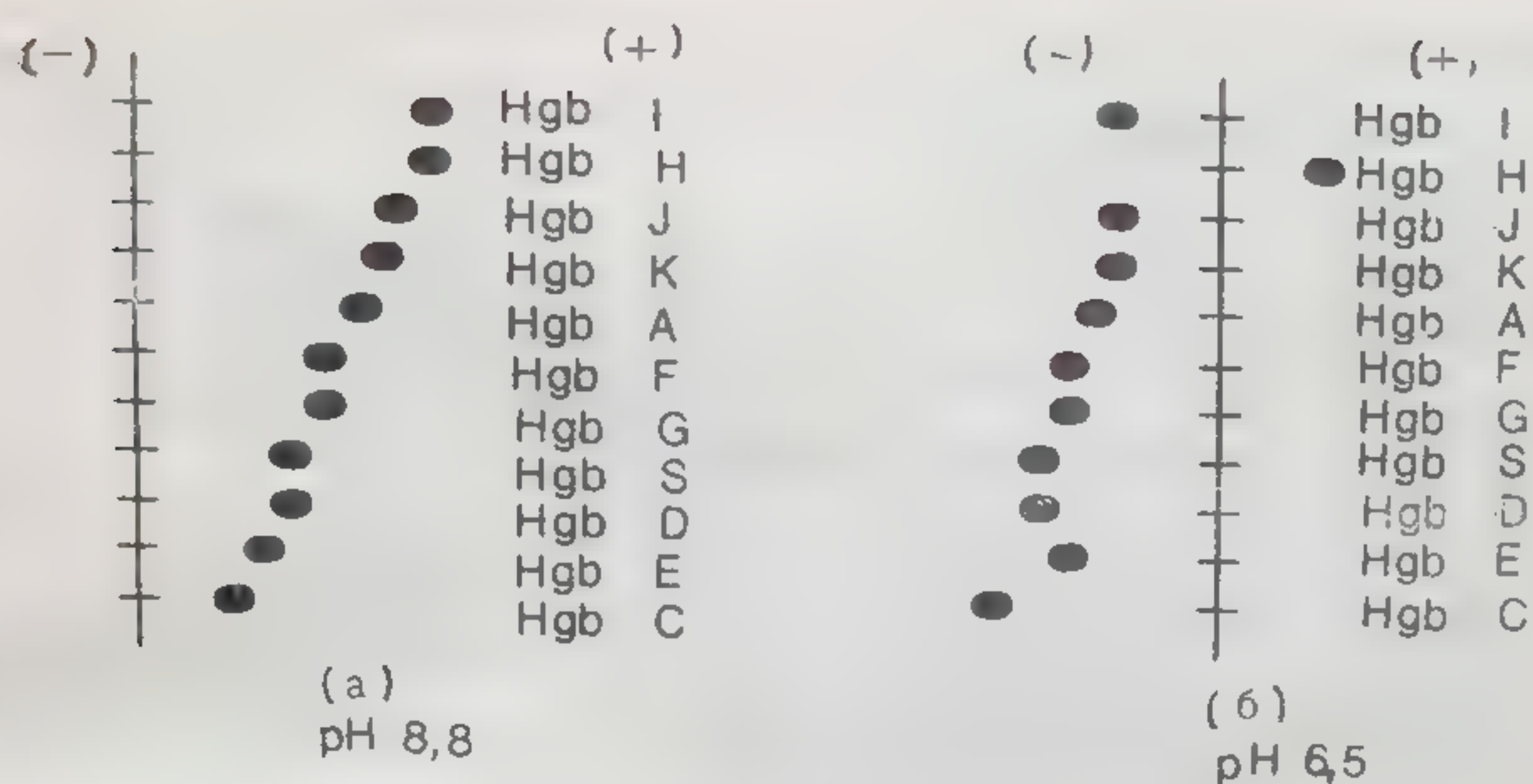


Рис. 3.1. Данные электрофореза аномальных видов гемоглобина на фильтровальной бумаге (Chernoff, 1958).

а — разделение при pH 8,8, справа — анод, слева — катод; б — электрофоретическая подвижность при pH 6,5, справа — анод, слева — катод.

вается 3 полосы с различной электрофоретической подвижностью:

Hb A (его будем именовать Hb A₁), являющийся главным компонентом, далее, микрокомпонент (около 2—3%) Hb A₂ с исключительно низкой по сравнению с первым электрофоретической подвижностью и сравнительно небольшой компонент (около 10%) Hb A₃, обладающий довольно высокой электрофоретической подвижностью (обнаруживает более высокую по сравнению с Hb A₁ электрофоретическую подвижность в сторону анода). Это подтвердило достоверность факта об отсутствии единообразия в составе гемоглобина здорового взрослого человека (рис. 3.2). Поскольку при талассемии (наследственная гипохромная микросфероцитарная анемия, не поддающаяся лечению препаратами железа) повышается процентное содержание Hb A₂, при диагностике данного заболевания целесообразно использовать количественное измерение Hb A₂. Кроме того, хотя при талассемии не удастся выявить степень измененной электрофоретической подвижности методом электрофореза, эти исследования показали, что состав гемоглобина здорового человека на электрофореграмме искажается.

Позднее, когда эти ученые, изготовив гемолизат, оставили его на некоторое время, им удалось заметить, что зона Hb A₃ (которая полностью не отделяется от зоны Hb A₁) становится толще. Этот момент навел на предположение о

вероятности ситуации, когда Hb A₃ после своего возникновения модифицируется и представляет собой измененный Hb A₁.

Таким образом, приблизительно в середине 50-х годов было выяснено, что в крови здорового человека, помимо гемоглобина Hb A₁ (основного компонента, около 96%), Hb A₂ (микрокомпонента, около 2%), а также Hb F (микрокомпонента, около 2%) и прочих видов гемоглобина, вырабатываемых в соответствующих врожденным свойствам формах, содержится еще компонент (Hb A₃), который после формирования подвергается изменению внутри эритроцитов и модифицируется. Иными словами, был выяснен факт отсутствия единообразия в составе гемоглобина, а также вероятность выработки характерных аномальных форм гемоглобина (гемоглобин, содержащий глобин измененного химического состава) Hb S, Hb C, Hb D, Hb E и др. при различных патологических состояниях.

Приблизительно в тот же период была сделана попытка (Boardman и Partridge, 1953) подвергнуть разделению гемоглобин животных методом колоночной хроматографии с использованием катионообменной смолы (Amberlite IRC 50). Усовершенствовали этот метод применительно к человеческому гемоглобину Morrison и Cook (1955). Эти ученые, пользуясь методом колоночной хроматографии, так же как и при использовании метода электрофореза в крахмальном блоке, подвергали одновременному разделению более двух компонентов гемолизата здорового человека. Schroeder и его коллеги-исследователи (Allen, Schroeder и Balog, 1958; Clegg и Schroeder, 1959; Schenk и Schroeder, 1961) добились дальнейшего усовершенствования этого метода и, убедившись, что можно выделить (рис. 3.3) из гемолизата здорового взрослого человека по меньшей мере 7 компонентов гемоглобина (A_{1a} ≡ met Hb редуктазы + TPN оксидазы, A_{1a-b}, A_{1c}, A_{1d} + A_{1e} = Hb F, A₁₁ ≡ Hb A₁, A_{111a} ≡ Hb A₂ и т. д.) (Matsuda, Schroeder, Jones и Weliky, 1960; Мацуда, 1961) (рис. 3.4), добились разделения эмбрионального гемоглобина на 6 компонентов [основные компоненты: F_I (около 10%); F_{II} (около 90%); микрокомпоненты: F_{III}, F_{IV}, F_V, F_{VI}].

Позднее для хроматографии были также использованы карбоксиметилцеллюлоза (СМС; анионообменник) и диметиламиноэтилцеллюлоза (DEAE-C; катионообменник) и пр.

Рис. 3.2. Данные электрофореза мальновского при гемолитическом кризисе

Выяснилось, что белок, не содержащий гемоглобина, не подвергается разделению при электрофорезе. Возможно, что Hb A₂ (≡ Hb A₂), состоящий из плато, Israels, Sebens и др. с DEAE-C (при скорости до 150 миллиметров в час), то становится, точно в зерно, подвергается разделению. A₂ (≡ Hb A₂), полностью идентичны колоночной хроматографии при более медленном движении. Кроме того, при pH 6,7; фосфатный буфер, до 6 компонентов, разделения по Тизели, гемоглобината (pH 6,7).

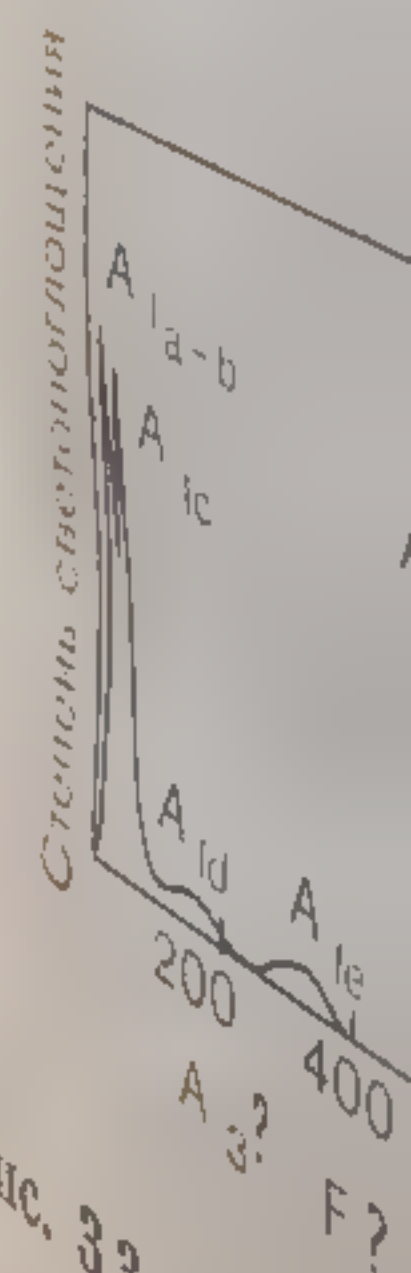
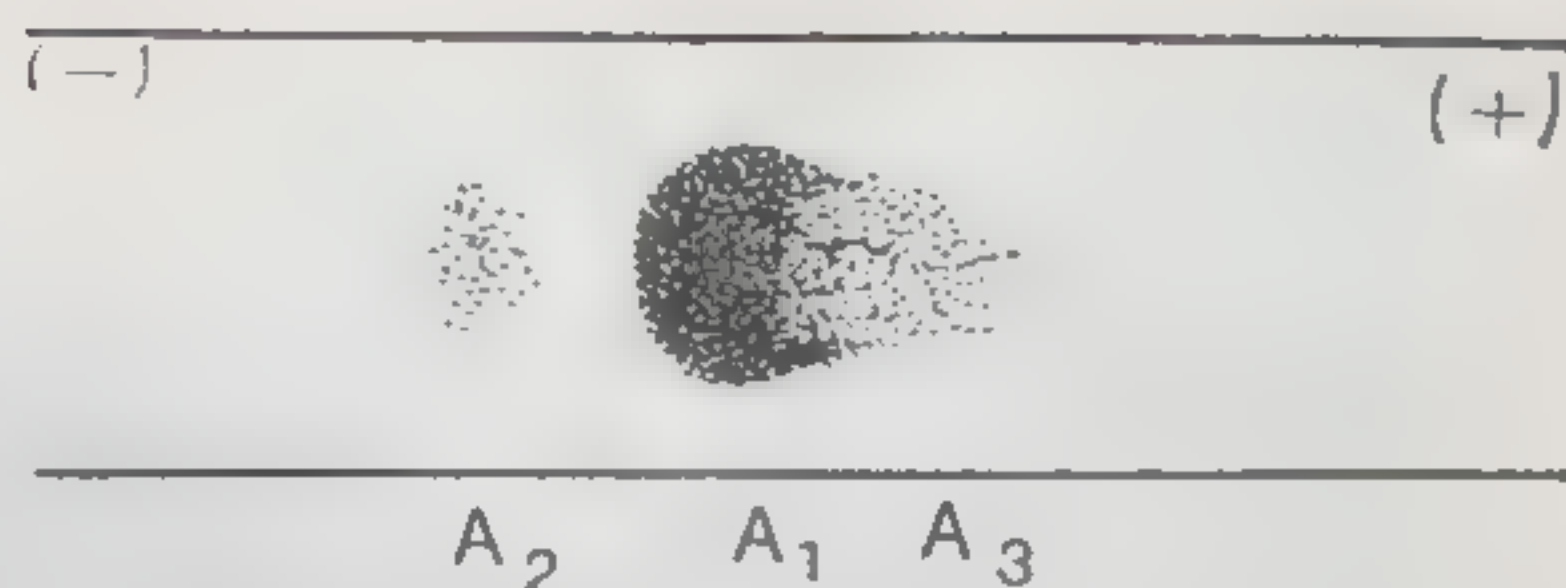


Рис. 3.3. Хроматография гемоглобина. Рис. 3.4. Хроматография гемоглобина.

Рис. 3.2. Данные электрофореза в крахмальном блоке при исследовании гемолизата здорового человека.



Выяснилось, что в гемолизате здорового человека в «белок, не содержащий гема» в составе СМС (в условиях перехода $pH\ 7,0 \rightarrow 8,0$) падает в порядке A_1 (A_1^A, A_1^B, A_1^C , возможно $\equiv Hb\ A_3$), A_0 (основной компонент $\equiv Hb\ A_1$), F , A_2 ($\equiv Hb\ A_2$), а гемолизат достигает благодаря этому постоянного плато (Huisman, Martis и Dozy, 1958; Meyering, Israels, Sebens и Huisman, 1960) (рис. 3.5). Что же касается DEAE-C (при pH около 8,5, градиент берется Na^+ от 50 до 150 миллиэквивалента/эквивалентной ионной проводимости), то стало понятно (Huisman и Dozy, 1961, 1962), что, точно в зеркальном изображении СМ-С, начинают подвергаться разделению компоненты гемоглобина в порядке: A_2 ($\equiv Hb\ A_2$), A_0 ($\equiv Hb\ A_1$), A_1 ($\equiv Hb\ A_3$) (причем абсолютно идентичные результаты были получены при помощи колоночной хроматографии CM Sephadex и DEAE Sephadex при более легкой технологии данного способа).

Кроме того, посредством высаливания гемолизата (при $pH\ 6,7$; фосфат) (Derrien, 1959) также было выделено около 6 компонентов. Позднее при использовании электрофореза по Тизелиусу с применением буферного раствора из жакодилата ($pH\ 6,5$) со слабой ионной силой ($\mu\ 0,018$)

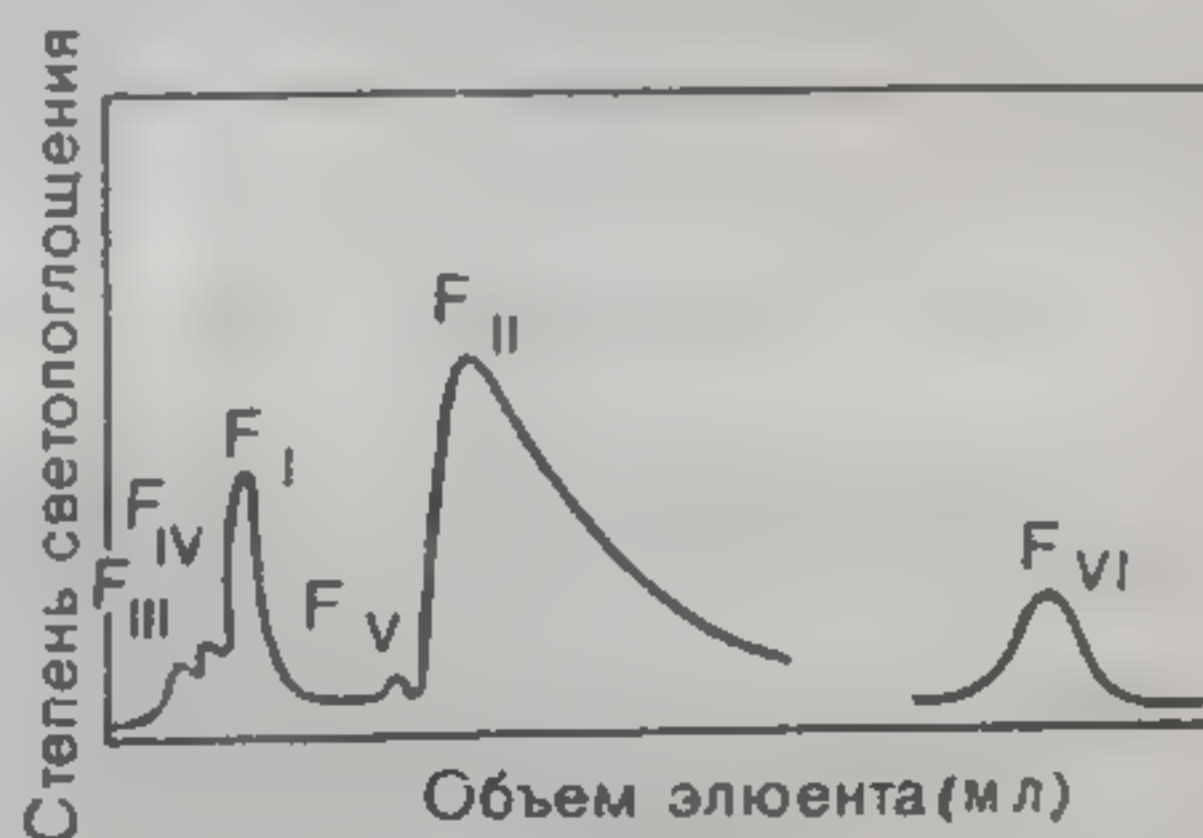
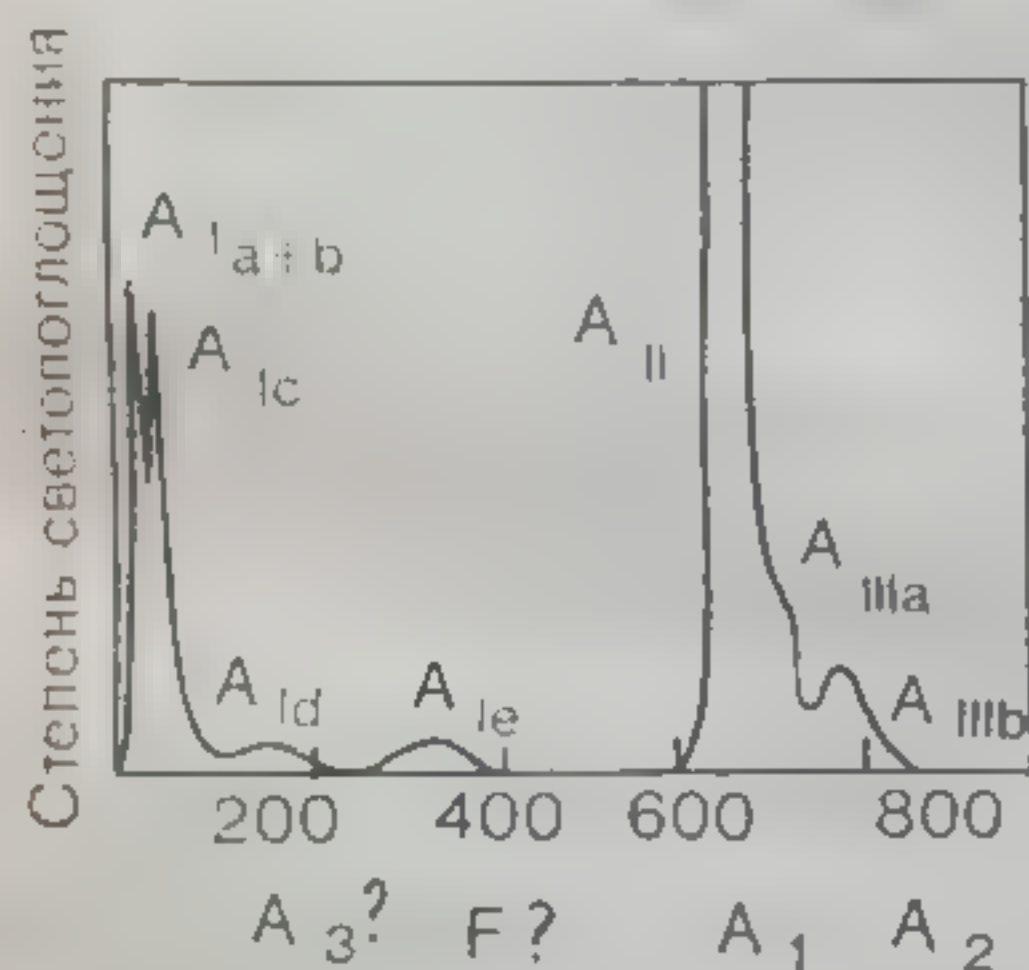


Рис. 3.3. Хроматография гемолизата здорового человека с использованием амберлита IRC 50 (Allen et al., 1958).

Рис. 3.4. Хроматография Hb F с использованием амберлита IRC 50.

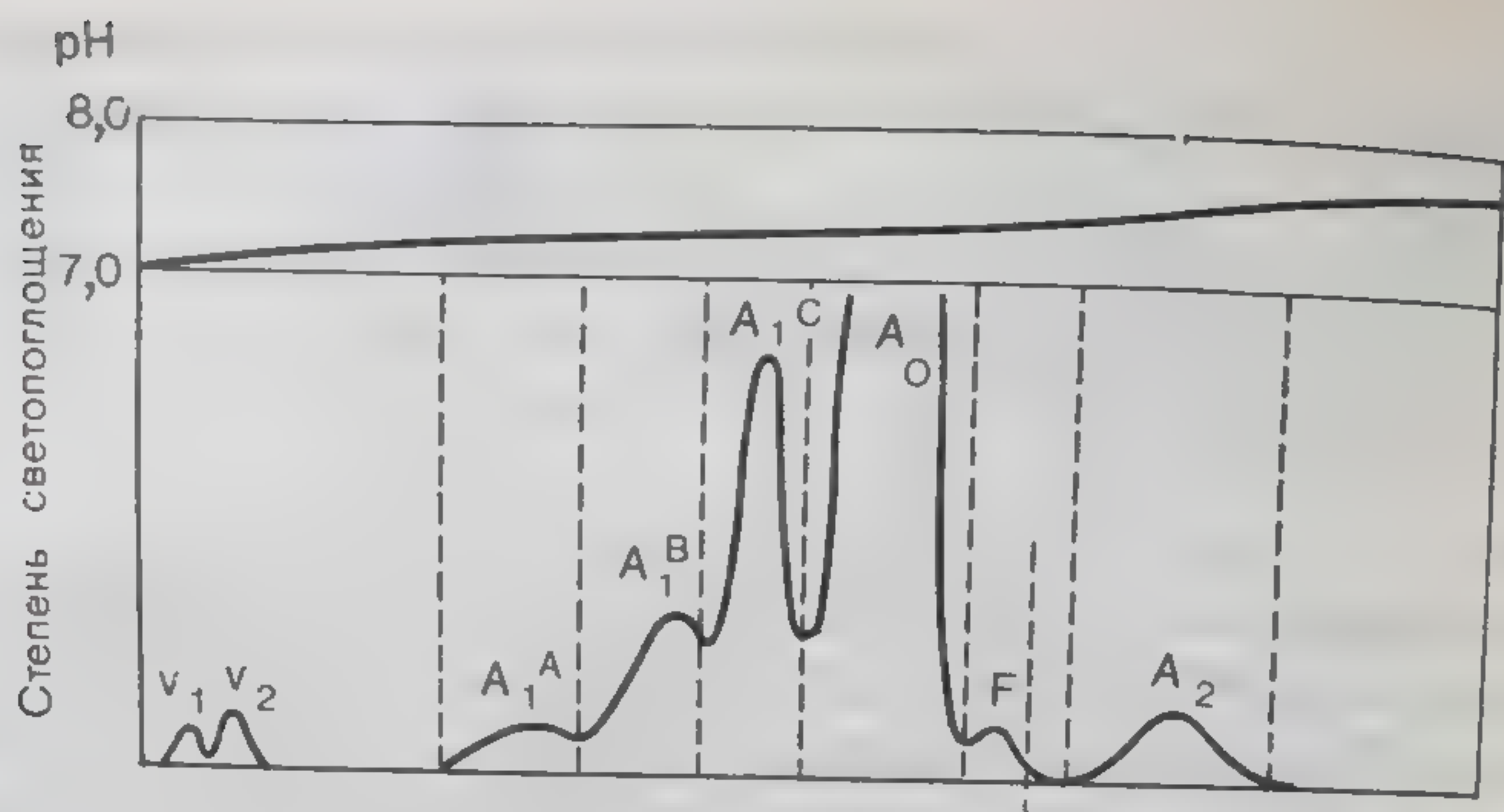


Рис. 3.5. Хроматография СМС гемолизата здорового человека (Huisman et al., 1958; Meyering et al., 1960).

гемолизат здорового человека обнаружил несколько пиков электрофоретической подвижности (Derrien, 1959).

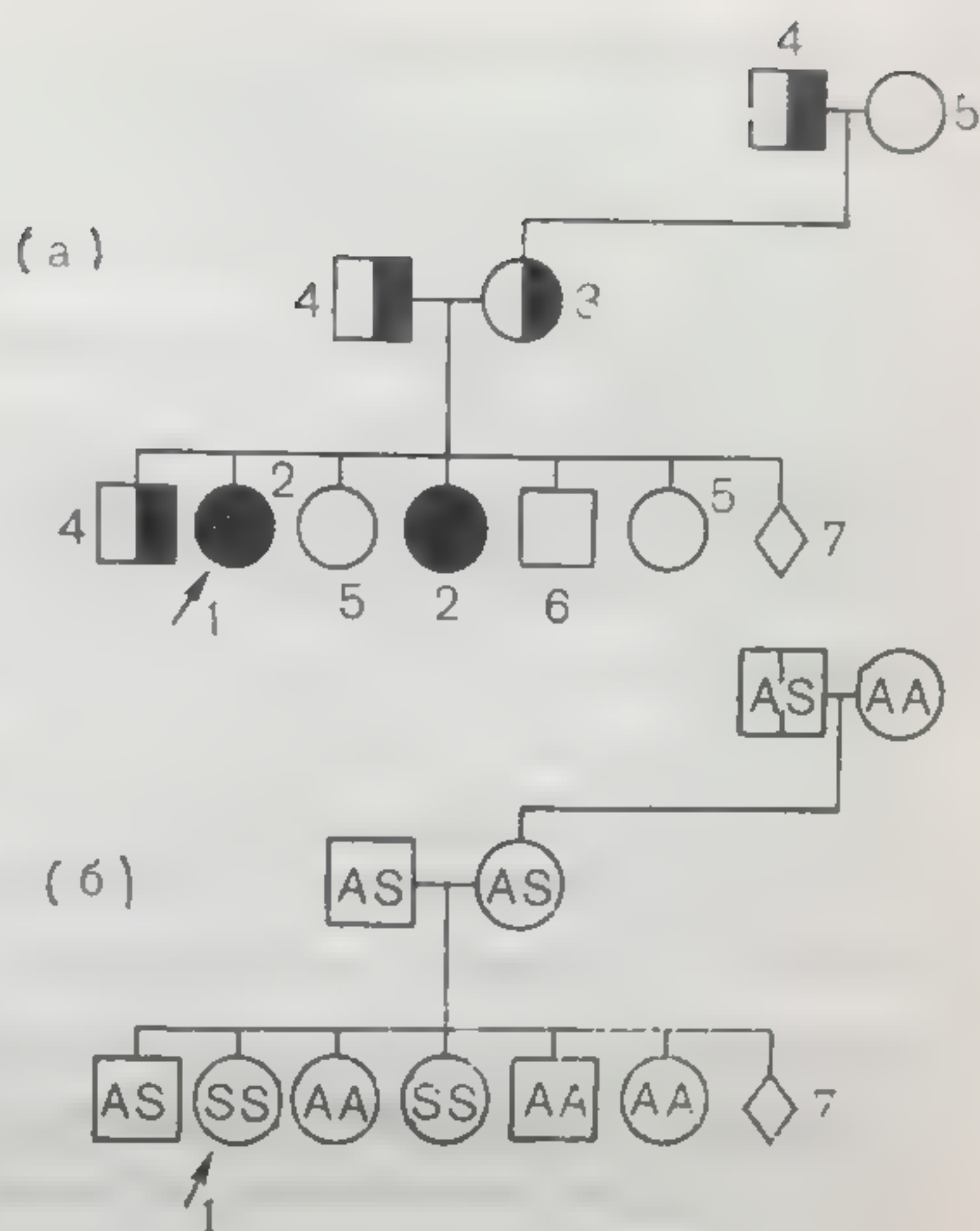
Таким образом, хотя и ранее не оставалось сомнения в том, что кровь здорового человека содержит смесь нескольких видов гемоглобина, и в том числе и такие виды, которые после выработки в организме модифицируются, однако с полной достоверностью можно предугадывать только наличие трех компонентов гемоглобина взрослого человека: Hb A (\equiv Hb A₁, главный компонент), Hb A₂ (микрокомпонент) и Hb F (микрокомпонент). В настоящее время благодаря новым методам электрофореза, ставшим доступными благодаря внесенным в них изменениям (электрофорез на фильтровальной бумаге; агаровый гель — Shibata и Iuchi, 1961), эти несколько компонентов могут легко быть выявлены при помощи электрофореза на крахмальном геле (Smithies et al., 1955, 1959; Мияти, Мацунага, 1967), на акриламидном геле (Ferris, 1962; Савамура, 1969), на целлюлозно-ацетатной пленке (Petrakis et al., 1962).

За последнее время были описаны Hb Portland-I (Carr et al., 1967; Jones, 1968) (идентичной электрофоретической подвижности с Hb A₁) на самой ранней стадии эмбрионального периода, затем Hb Gower-2 (Huehns et al., 1961, 1964) (с малой электрофоретической подвижностью по сравнению с Hb A₂), несколько позднее было подтверждено переключение в выработку Hb F.

Рис. 3.6.

Часть генеалогической карты (а) о наследственных формах серповидноклеточной эритроцитарной анемии и толковании, представленном впервые Neel, 1951 (б).

1 — пробанд; 2 — больной серповидноклеточной эритроцитарной анемией; 3, 4 — на первый взгляд здоровые индивиды, носители серповидноклеточности; 5, 6 — здоровые (нормальные люди); 7 — не изучены; А — нормальный ген гемоглобина; S — ген серповидноклеточной эритроцитарной анемии.



3.2. ГЕНЕТИКА ГЕМОГЛОБИНА

В том же году (1949), когда Pauling с соавт. открыл Hb S, Neel (1949, 1951) обследовал родителей больного, страдавшего серповидноклеточной анемией, и, как это проиллюстрировано на генеалогической таблице (а) на рис. 3.6, обнаружил следующее: хотя родители на первый взгляд были здоровы, однако в условиях создания в их крови недостаточности O_2 в ней возникает серповидноклеточность. Короче говоря, хотя это проявляется и не в столь тяжелой степени, как у больных серповидноклеточной анемией, все-таки в их крови имеется недостаток (так называемая склонность к формированию п эритроцитах серповидноклеточности), способный вызывать серповидноклеточность. Neel показал, что у одних детей таких родителей этот недостаток удваивается и, передаваясь по наследству, влечет за собой серповидноклеточную анемию, другим потомкам передается в качестве склонности к формированию в эритроцитах серповидноклеточности, тогда как в иных случаях вовсе не передается детям (здоровы).

Если проанализировать вышесказанное, то получится, что здоровые люди должны быть обладателями пары (AA), получившими от каждого из своих родителей по гену А, который в нормальном состоянии не вызывает серповидноклеточности. Если можно было бы допустить, что ген S,

вызывающий серповидноклеточность при серповидноклеточной анемии, оказался бы равноправным по отношению к гену А и не обнаруживал ни доминантности, ни рецессивности, к тому же оказался бы аллельным (занимая одинаковые локусы на поверхности хромосомы, был бы в состоянии осуществлять взаимный кроссинговер), то можно было бы заново переписать генеалогическую таблицу (а) по примеру генеалогической таблицы (б) (таблицы изображены на рис. 3.6). Рассмотрев их, можно прийти к заключению, что больной серповидноклеточной анемией, получив и от отца и от матери по гену S, является носителем гомозиготности (SS), а здоровый на первый взгляд индивид, обнаруживающий в условиях недостаточности O₂ симптомы серповидноклеточности (склонность к серповидноклеточности), является носителем гетерозиготности (AS), получившим от одного из родителей ген А, а от другого — ген S.

Pauling с соавт., заметив, что состав гемоглобина при серповидноклеточной анемии в действительности представляет собой 100% Hb S, а при склонности эритроцитов к серповидноклеточности Hb S находится почти в равных соотношениях с Hb A (Hb S 30—40%, Hb A 60—70%), сопоставили фактический 100% состав Hb A здорового человека с данными обследований методом электрофореза и еще раз подтвердили достоверность этих выводов. При всем том анализ генеалогической таблицы проводится абсолютно независимо от анализа гемоглобина крови, поэтому необходимо быть чрезвычайно внимательным, чтобы понять генетическую суть серповидноклеточной анемии.

После того как электрофорез гемолизата (в частности, с фильтровальной бумагой в качестве поддерживающей среды) нашел практическое применение, вслед за Hb S был открыт второй аномальный гемоглобин — Hb C. Hb C представляет собой гемоглобин с низким отрицательным зарядом, поэтому он обнаруживает более медленную электрофоретическую подвижность в сторону анода по сравнению с Hb A и Hb S, и его легко можно отличить от Hb A и Hb S. Ranney (1954), исследуя состав гемоглобина у больного, который, как казалось на первый взгляд, страдал серповидноклеточной анемией, не выявил Hb A, но заметил, что у него одновременно имеются Hb S и Hb C, причем почти в равных пропорциях (заболевание Hb S/Hb C), и подверг тщательному изучению его генеалогическое древо.

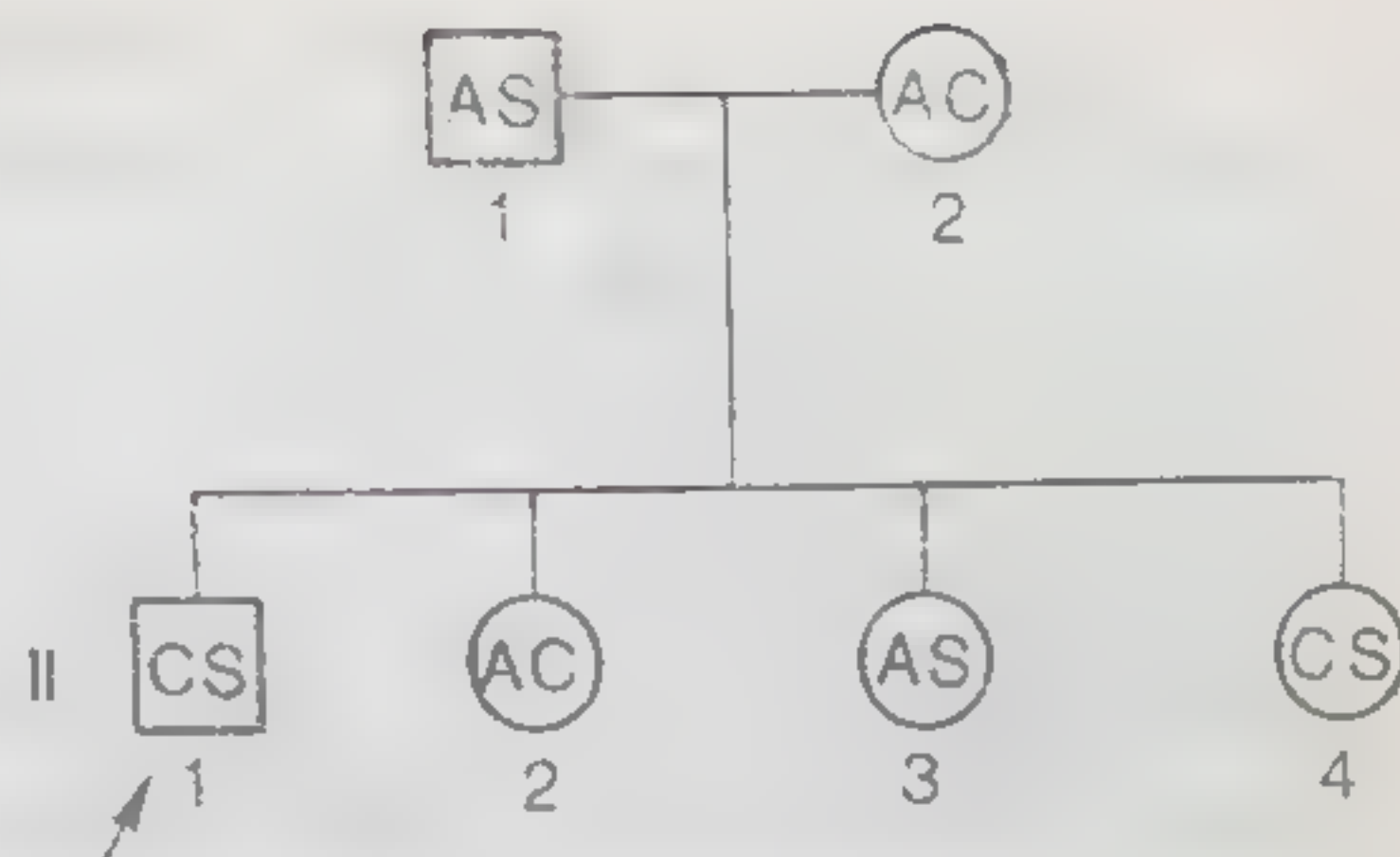
Рис. 3.7.
Часть родос-
ногом Hb S/Hb
А — нормаль-
А); S — Hb S
является одно-
Hb S, CS вме-
кроме того, А
является с Н
банд; I — 1-е
ли), II — 2-е

На рис.
исследован
гемоглобина
Hb S и Hb C
этот рисунок
бина: склон
признак Hb
ции двух ви
проявляются
А, S и C явл
Между тем
одного за д
известно, что
ет эти анома
качестве обр
Hb S — родос
(1958). Hb H
глобин с бол
тической под
Эта генеал
Рассматрива
явить, что из
в крови кото
отсутствовал
(Hb₁, Hb₂, Hb₃, Hb₄, Hb₅, Hb₆, Hb₇, Hb₈, Hb₉, Hb₁₀, Hb₁₁, Hb₁₂, Hb₁₃, Hb₁₄, Hb₁₅, Hb₁₆, Hb₁₇, Hb₁₈, Hb₁₉, Hb₂₀, Hb₂₁, Hb₂₂, Hb₂₃, Hb₂₄, Hb₂₅, Hb₂₆, Hb₂₇, Hb₂₈, Hb₂₉, Hb₃₀, Hb₃₁, Hb₃₂, Hb₃₃, Hb₃₄, Hb₃₅, Hb₃₆, Hb₃₇, Hb₃₈, Hb₃₉, Hb₄₀, Hb₄₁, Hb₄₂, Hb₄₃, Hb₄₄, Hb₄₅, Hb₄₆, Hb₄₇, Hb₄₈, Hb₄₉, Hb₅₀, Hb₅₁, Hb₅₂, Hb₅₃, Hb₅₄, Hb₅₅, Hb₅₆, Hb₅₇, Hb₅₈, Hb₅₉, Hb₆₀, Hb₆₁, Hb₆₂, Hb₆₃, Hb₆₄, Hb₆₅, Hb₆₆, Hb₆₇, Hb₆₈, Hb₆₉, Hb₇₀, Hb₇₁, Hb₇₂, Hb₇₃, Hb₇₄, Hb₇₅, Hb₇₆, Hb₇₇, Hb₇₈, Hb₇₉, Hb₈₀, Hb₈₁, Hb₈₂, Hb₈₃, Hb₈₄, Hb₈₅, Hb₈₆, Hb₈₇, Hb₈₈, Hb₈₉, Hb₉₀, Hb₉₁, Hb₉₂, Hb₉₃, Hb₉₄, Hb₉₅, Hb₉₆, Hb₉₇, Hb₉₈, Hb₉₉, Hb₁₀₀, Hb₁₀₁, Hb₁₀₂, Hb₁₀₃, Hb₁₀₄, Hb₁₀₅, Hb₁₀₆, Hb₁₀₇, Hb₁₀₈, Hb₁₀₉, Hb₁₁₀, Hb₁₁₁, Hb₁₁₂, Hb₁₁₃, Hb₁₁₄, Hb₁₁₅, Hb₁₁₆, Hb₁₁₇, Hb₁₁₈, Hb₁₁₉, Hb₁₂₀, Hb₁₂₁, Hb₁₂₂, Hb₁₂₃, Hb₁₂₄, Hb₁₂₅, Hb₁₂₆, Hb₁₂₇, Hb₁₂₈, Hb₁₂₉, Hb₁₃₀, Hb₁₃₁, Hb₁₃₂, Hb₁₃₃, Hb₁₃₄, Hb₁₃₅, Hb₁₃₆, Hb₁₃₇, Hb₁₃₈, Hb₁₃₉, Hb₁₄₀, Hb₁₄₁, Hb₁₄₂, Hb₁₄₃, Hb₁₄₄, Hb₁₄₅, Hb₁₄₆, Hb₁₄₇, Hb₁₄₈, Hb₁₄₉, Hb₁₅₀, Hb₁₅₁, Hb₁₅₂, Hb₁₅₃, Hb₁₅₄, Hb₁₅₅, Hb₁₅₆, Hb₁₅₇, Hb₁₅₈, Hb₁₅₉, Hb₁₆₀, Hb₁₆₁, Hb₁₆₂, Hb₁₆₃, Hb₁₆₄, Hb₁₆₅, Hb₁₆₆, Hb₁₆₇, Hb₁₆₈, Hb₁₆₉, Hb₁₇₀, Hb₁₇₁, Hb₁₇₂, Hb₁₇₃, Hb₁₇₄, Hb₁₇₅, Hb₁₇₆, Hb₁₇₇, Hb₁₇₈, Hb₁₇₉, Hb₁₈₀, Hb₁₈₁, Hb₁₈₂, Hb₁₈₃, Hb₁₈₄, Hb₁₈₅, Hb₁₈₆, Hb₁₈₇, Hb₁₈₈, Hb₁₈₉, Hb₁₉₀, Hb₁₉₁, Hb₁₉₂, Hb₁₉₃, Hb₁₉₄, Hb₁₉₅, Hb₁₉₆, Hb₁₉₇, Hb₁₉₈, Hb₁₉₉, Hb₂₀₀, Hb₂₀₁, Hb₂₀₂, Hb₂₀₃, Hb₂₀₄, Hb₂₀₅, Hb₂₀₆, Hb₂₀₇, Hb₂₀₈, Hb₂₀₉, Hb₂₁₀, Hb₂₁₁, Hb₂₁₂, Hb₂₁₃, Hb₂₁₄, Hb₂₁₅, Hb₂₁₆, Hb₂₁₇, Hb₂₁₈, Hb₂₁₉, Hb₂₂₀, Hb₂₂₁, Hb₂₂₂, Hb₂₂₃, Hb₂₂₄, Hb₂₂₅, Hb₂₂₆, Hb₂₂₇, Hb₂₂₈, Hb₂₂₉, Hb₂₃₀, Hb₂₃₁, Hb₂₃₂, Hb₂₃₃, Hb₂₃₄, Hb₂₃₅, Hb₂₃₆, Hb₂₃₇, Hb₂₃₈, Hb₂₃₉, Hb₂₄₀, Hb₂₄₁, Hb₂₄₂, Hb₂₄₃, Hb₂₄₄, Hb₂₄₅, Hb₂₄₆, Hb₂₄₇, Hb₂₄₈, Hb₂₄₉, Hb₂₅₀, Hb₂₅₁, Hb₂₅₂, Hb₂₅₃, Hb₂₅₄, Hb₂₅₅, Hb₂₅₆, Hb₂₅₇, Hb₂₅₈, Hb₂₅₉, Hb₂₆₀, Hb₂₆₁, Hb₂₆₂, Hb₂₆₃, Hb₂₆₄, Hb₂₆₅, Hb₂₆₆, Hb₂₆₇, Hb₂₆₈, Hb₂₆₉, Hb₂₇₀, Hb₂₇₁, Hb₂₇₂, Hb₂₇₃, Hb₂₇₄, Hb₂₇₅, Hb₂₇₆, Hb₂₇₇, Hb₂₇₈, Hb₂₇₉, Hb₂₈₀, Hb₂₈₁, Hb₂₈₂, Hb₂₈₃, Hb₂₈₄, Hb₂₈₅, Hb₂₈₆, Hb₂₈₇, Hb₂₈₈, Hb₂₈₉, Hb₂₉₀, Hb₂₉₁, Hb₂₉₂, Hb₂₉₃, Hb₂₉₄, Hb₂₉₅, Hb₂₉₆, Hb₂₉₇, Hb₂₉₈, Hb₂₉₉, Hb₃₀₀, Hb₃₀₁, Hb₃₀₂, Hb₃₀₃, Hb₃₀₄, Hb₃₀₅, Hb₃₀₆, Hb₃₀₇, Hb₃₀₈, Hb₃₀₉, Hb₃₁₀, Hb₃₁₁, Hb₃₁₂, Hb₃₁₃, Hb₃₁₄, Hb₃₁₅, Hb₃₁₆, Hb₃₁₇, Hb₃₁₈, Hb₃₁₉, Hb₃₂₀, Hb₃₂₁, Hb₃₂₂, Hb₃₂₃, Hb₃₂₄, Hb₃₂₅, Hb₃₂₆, Hb₃₂₇, Hb₃₂₈, Hb₃₂₉, Hb₃₃₀, Hb₃₃₁, Hb₃₃₂, Hb₃₃₃, Hb₃₃₄, Hb₃₃₅, Hb₃₃₆, Hb₃₃₇, Hb₃₃₈, Hb₃₃₉, Hb₃₄₀, Hb₃₄₁, Hb₃₄₂, Hb₃₄₃, Hb₃₄₄, Hb₃₄₅, Hb₃₄₆, Hb₃₄₇, Hb₃₄₈, Hb₃₄₉, Hb₃₅₀, Hb₃₅₁, Hb₃₅₂, Hb₃₅₃, Hb₃₅₄, Hb₃₅₅, Hb₃₅₆, Hb₃₅₇, Hb₃₅₈, Hb₃₅₉, Hb₃₆₀, Hb₃₆₁, Hb₃₆₂, Hb₃₆₃, Hb₃₆₄, Hb₃₆₅, Hb₃₆₆, Hb₃₆₇, Hb₃₆₈, Hb₃₆₉, Hb₃₇₀, Hb₃₇₁, Hb₃₇₂, Hb₃₇₃, Hb₃₇₄, Hb₃₇₅, Hb₃₇₆, Hb₃₇₇, Hb₃₇₈, Hb₃₇₉, Hb₃₈₀, Hb₃₈₁, Hb₃₈₂, Hb₃₈₃, Hb₃₈₄, Hb₃₈₅, Hb₃₈₆, Hb₃₈₇, Hb₃₈₈, Hb₃₈₉, Hb₃₉₀, Hb₃₉₁, Hb₃₉₂, Hb₃₉₃, Hb₃₉₄, Hb₃₉₅, Hb₃₉₆, Hb₃₉₇, Hb₃₉₈, Hb₃₉₉, Hb₄₀₀, Hb₄₀₁, Hb₄₀₂, Hb₄₀₃, Hb₄₀₄, Hb₄₀₅, Hb₄₀₆, Hb₄₀₇, Hb₄₀₈, Hb₄₀₉, Hb₄₁₀, Hb₄₁₁, Hb₄₁₂, Hb₄₁₃, Hb₄₁₄, Hb₄₁₅, Hb₄₁₆, Hb₄₁₇, Hb₄₁₈, Hb₄₁₉, Hb₄₂₀, Hb₄₂₁, Hb₄₂₂, Hb₄₂₃, Hb₄₂₄, Hb₄₂₅, Hb₄₂₆, Hb₄₂₇, Hb₄₂₈, Hb₄₂₉, Hb₄₃₀, Hb₄₃₁, Hb₄₃₂, Hb₄₃₃, Hb₄₃₄, Hb₄₃₅, Hb₄₃₆, Hb₄₃₇, Hb₄₃₈, Hb₄₃₉, Hb₄₄₀, Hb₄₄₁, Hb₄₄₂, Hb₄₄₃, Hb₄₄₄, Hb₄₄₅, Hb₄₄₆, Hb₄₄₇, Hb₄₄₈, Hb₄₄₉, Hb₄₅₀, Hb₄₅₁, Hb₄₅₂, Hb₄₅₃, Hb₄₅₄, Hb₄₅₅, Hb₄₅₆, Hb₄₅₇, Hb₄₅₈, Hb₄₅₉, Hb₄₆₀, Hb₄₆₁, Hb₄₆₂, Hb₄₆₃, Hb₄₆₄, Hb₄₆₅, Hb₄₆₆, Hb₄₆₇, Hb₄₆₈, Hb₄₆₉, Hb₄₇₀, Hb₄₇₁, Hb₄₇₂, Hb₄₇₃, Hb₄₇₄, Hb₄₇₅, Hb₄₇₆, Hb₄₇₇, Hb₄₇₈, Hb₄₇₉, Hb₄₈₀, Hb₄₈₁, Hb₄₈₂, Hb₄₈₃, Hb₄₈₄, Hb₄₈₅, Hb₄₈₆, Hb₄₈₇, Hb₄₈₈, Hb₄₈₉, Hb₄₉₀, Hb₄₉₁, Hb₄₉₂, Hb₄₉₃, Hb₄₉₄, Hb₄₉₅, Hb₄₉₆, Hb₄₉₇, Hb₄₉₈, Hb₄₉₉, Hb₅₀₀, Hb₅₀₁, Hb₅₀₂, Hb₅₀₃, Hb₅₀₄, Hb₅₀₅, Hb₅₀₆, Hb₅₀₇, Hb₅₀₈, Hb₅₀₉, Hb₅₁₀, Hb₅₁₁, Hb₅₁₂, Hb₅₁₃, Hb₅₁₄, Hb₅₁₅, Hb₅₁₆, Hb₅₁₇, Hb₅₁₈, Hb₅₁₉, Hb₅₂₀, Hb₅₂₁, Hb₅₂₂, Hb₅₂₃, Hb₅₂₄, Hb₅₂₅, Hb₅₂₆, Hb₅₂₇, Hb₅₂₈, Hb₅₂₉, Hb₅₃₀, Hb₅₃₁, Hb₅₃₂, Hb₅₃₃, Hb₅₃₄, Hb₅₃₅, Hb₅₃₆, Hb₅₃₇, Hb₅₃₈, Hb₅₃₉, Hb₅₄₀, Hb₅₄₁, Hb₅₄₂, Hb₅₄₃, Hb₅₄₄, Hb₅₄₅, Hb₅₄₆, Hb₅₄₇, Hb₅₄₈, Hb₅₄₉, Hb₅₅₀, Hb₅₅₁, Hb₅₅₂, Hb₅₅₃, Hb₅₅₄, Hb₅₅₅, Hb₅₅₆, Hb₅₅₇, Hb₅₅₈, Hb₅₅₉, Hb₅₆₀, Hb₅₆₁, Hb₅₆₂, Hb₅₆₃, Hb₅₆₄, Hb₅₆₅, Hb₅₆₆, Hb₅₆₇, Hb₅₆₈, Hb₅₆₉, Hb₅₇₀, Hb₅₇₁, Hb₅₇₂, Hb₅₇₃, Hb₅₇₄, Hb₅₇₅, Hb₅₇₆, Hb₅₇₇, Hb₅₇₈, Hb₅₇₉, Hb₅₈₀, Hb₅₈₁, Hb₅₈₂, Hb₅₈₃, Hb₅₈₄, Hb₅₈₅, Hb₅₈₆, Hb₅₈₇, Hb₅₈₈, Hb₅₈₉, Hb₅₉₀, Hb₅₉₁, Hb₅₉₂, Hb₅₉₃, Hb₅₉₄, Hb₅₉₅, Hb₅₉₆, Hb₅₉₇, Hb₅₉₈, Hb₅₉₉, Hb₆₀₀, Hb₆₀₁, Hb₆₀₂, Hb₆₀₃, Hb₆₀₄, Hb₆₀₅, Hb₆₀₆, Hb₆₀₇, Hb₆₀₈, Hb₆₀₉, Hb₆₁₀, Hb₆₁₁, Hb₆₁₂, Hb₆₁₃, Hb₆₁₄, Hb₆₁₅, Hb₆₁₆, Hb₆₁₇, Hb₆₁₈, Hb₆₁₉, Hb₆₂₀, Hb₆₂₁, Hb₆₂₂, Hb₆₂₃, Hb₆₂₄, Hb₆₂₅, Hb₆₂₆, Hb₆₂₇, Hb₆₂₈, Hb₆₂₉, Hb₆₃₀, Hb₆₃₁, Hb₆₃₂, Hb₆₃₃, Hb₆₃₄, Hb₆₃₅, Hb₆₃₆, Hb₆₃₇, Hb₆₃₈, Hb₆₃₉, Hb₆₄₀, Hb₆₄₁, Hb₆₄₂, Hb₆₄₃, Hb₆₄₄, Hb₆₄₅, Hb₆₄₆, Hb₆₄₇, Hb₆₄₈, Hb₆₄₉, Hb₆₅₀, Hb₆₅₁, Hb₆₅₂, Hb₆₅₃, Hb₆₅₄, Hb₆₅₅, Hb₆₅₆, Hb₆₅₇, Hb₆₅₈, Hb₆₅₉, Hb₆₆₀, Hb₆₆₁, Hb₆₆₂, Hb₆₆₃, Hb₆₆₄, Hb₆₆₅, Hb₆₆₆, Hb₆₆₇, Hb₆₆₈, Hb₆₆₉, Hb₆₇₀, Hb₆₇₁, Hb₆₇₂, Hb₆₇₃, Hb₆₇₄, Hb₆₇₅, Hb₆₇₆, Hb₆₇₇, Hb₆₇₈, Hb₆₇₉, Hb₆₈₀, Hb₆₈₁, Hb₆₈₂, Hb₆₈₃, Hb₆₈₄, Hb₆₈₅, Hb₆₈₆, Hb₆₈₇, Hb₆₈₈, Hb₆₈₉, Hb₆₉₀, Hb₆₉₁, Hb₆₉₂, Hb₆₉₃, Hb₆₉₄, Hb₆₉₅, Hb₆₉₆, Hb₆₉₇, Hb₆₉₈, Hb₆₉₉, Hb₇₀₀, Hb₇₀₁, Hb₇₀₂, Hb₇₀₃, Hb₇₀₄, Hb₇₀₅, Hb₇₀₆, Hb₇₀₇, Hb₇₀₈, Hb₇₀₉, Hb₇₁₀, Hb₇₁₁, Hb₇₁₂, Hb₇₁₃, Hb₇₁₄, Hb₇₁₅, Hb₇₁₆, Hb₇₁₇, Hb₇₁₈, Hb₇₁₉, Hb₇₂₀, Hb₇₂₁, Hb₇₂₂, Hb₇₂₃, Hb₇₂₄, Hb₇₂₅, Hb₇₂₆, Hb₇₂₇, Hb₇₂₈, Hb₇₂₉, Hb₇₃₀, Hb₇₃₁, Hb₇₃₂, Hb₇₃₃, Hb₇₃₄, Hb₇₃₅, Hb₇₃₆, Hb₇₃₇, Hb₇₃₈, Hb₇₃₉, Hb₇₄₀, Hb₇₄₁, Hb₇₄₂, Hb₇₄₃, Hb₇₄₄, Hb₇₄₅, Hb₇₄₆, Hb₇₄₇, Hb₇₄₈, Hb₇₄₉, Hb₇₅₀, Hb₇₅₁, Hb₇₅₂, Hb₇₅₃, Hb₇₅₄, Hb₇₅₅, Hb₇₅₆, Hb₇₅₇, Hb₇₅₈, Hb₇₅₉, Hb₇₆₀, Hb₇₆₁, Hb₇₆₂, Hb₇₆₃, Hb₇₆₄, Hb₇₆₅, Hb₇₆₆, Hb₇₆₇, Hb₇₆₈, Hb₇₆₉, Hb₇₇₀, Hb₇₇₁, Hb₇₇₂, Hb₇₇₃, Hb₇₇₄, Hb₇₇₅, Hb₇₇₆, Hb₇₇₇, Hb₇₇₈, Hb₇₇₉, Hb₇₈₀, Hb₇₈₁, Hb₇₈₂, Hb₇₈₃, Hb₇₈₄, Hb₇₈₅, Hb₇₈₆, Hb₇₈₇, Hb₇₈₈, Hb₇₈₉, Hb₇₉₀, Hb₇₉₁, Hb₇₉₂, Hb₇₉₃, Hb₇₉₄, Hb₇₉₅, Hb₇₉₆, Hb₇₉₇, Hb₇₉₈, Hb₇₉₉, Hb₈₀₀, Hb₈₀₁, Hb₈₀₂, Hb₈₀₃, Hb₈₀₄, Hb₈₀₅, Hb₈₀₆, Hb₈₀₇, Hb₈₀₈, Hb₈₀₉, Hb₈₁₀, Hb₈₁₁, Hb₈₁₂, Hb₈₁₃, Hb₈₁₄, Hb₈₁₅, Hb₈₁₆, Hb₈₁₇, Hb₈₁₈, Hb₈₁₉, Hb₈₂₀, Hb₈₂₁, Hb₈₂₂, Hb₈₂₃, Hb₈₂₄, Hb₈₂₅, Hb₈₂₆, Hb₈₂₇, Hb₈₂₈, Hb₈₂₉, Hb₈₃₀, Hb₈₃₁, Hb₈₃₂, Hb₈₃₃, Hb₈₃₄, Hb₈₃₅, Hb₈₃₆, Hb₈₃₇, Hb₈₃₈, Hb₈₃₉, Hb₈₄₀, Hb₈₄₁, Hb₈₄₂, Hb₈₄₃, Hb₈₄₄, Hb₈₄₅, Hb₈₄₆, Hb₈₄₇, Hb₈₄₈, Hb₈₄₉, Hb₈₅₀, Hb₈₅₁, Hb₈₅₂, Hb₈₅₃, Hb₈₅₄, Hb₈₅₅, Hb₈₅₆, Hb₈₅₇, Hb₈₅₈, Hb₈₅₉, Hb₈₆₀, Hb₈₆₁, Hb₈₆₂, Hb₈₆₃, Hb₈₆₄, Hb₈₆₅, Hb₈₆₆, Hb₈₆₇, Hb₈₆₈, Hb₈₆₉, Hb₈₇₀, Hb₈₇₁, Hb₈₇₂, Hb₈₇₃, Hb₈₇₄, Hb₈₇₅, Hb₈₇₆, Hb₈₇₇, Hb₈₇₈, Hb₈₇₉, Hb₈₈₀, Hb₈₈₁, Hb₈₈₂, Hb₈₈₃, Hb₈₈₄, Hb₈₈₅, Hb₈₈₆, Hb₈₈₇, Hb₈₈₈, Hb₈₈₉, Hb₈₉₀, Hb₈₉₁, Hb₈₉₂, Hb₈₉₃, Hb₈₉₄, Hb₈₉₅, Hb₈₉₆, Hb₈₉₇, Hb₈₉₈, Hb₈₉₉, Hb₉₀₀, Hb₉₀₁, Hb₉₀₂, Hb₉₀₃, Hb₉₀₄, Hb₉₀₅, Hb₉₀₆, Hb₉₀₇, Hb₉₀₈, Hb₉₀₉, Hb₉₁₀, Hb₉₁₁, Hb₉₁₂, Hb₉₁₃, Hb₉₁₄, Hb₉₁₅, Hb₉₁₆, Hb₉₁₇, Hb₉₁₈, Hb₉₁₉, Hb₉₂₀, Hb₉₂₁, Hb₉₂₂, Hb₉₂₃, Hb₉₂₄, Hb₉₂₅, Hb₉₂₆, Hb₉₂₇, Hb₉₂₈, Hb₉₂₉, Hb₉₃₀, Hb₉₃₁, Hb₉₃₂, Hb₉₃₃, Hb₉₃₄, Hb₉₃₅, Hb₉₃₆, Hb₉₃₇, Hb₉₃₈, Hb₉₃₉, Hb₉₄₀, Hb₉₄₁, Hb₉₄₂, Hb₉₄₃, Hb₉₄₄, Hb₉₄₅, Hb₉₄₆, Hb₉₄₇, Hb₉₄₈, Hb₉₄₉, Hb₉₅₀, Hb₉₅₁, Hb₉₅₂, Hb₉₅₃, Hb₉₅₄, Hb₉₅₅, Hb₉₅₆, Hb₉₅₇, Hb₉₅₈, Hb₉₅₉, Hb₉₆₀, Hb₉₆₁, Hb₉₆₂, Hb₉₆₃, Hb₉₆₄, Hb₉₆₅, Hb₉₆₆, Hb₉₆₇, Hb₉₆₈, Hb₉₆₉, Hb₉₇₀, Hb₉₇₁, Hb₉₇₂, Hb₉₇₃, Hb₉₇₄, Hb₉₇₅, Hb₉₇₆, Hb₉₇₇, Hb₉₇₈, Hb₉₇₉, Hb₉₈₀, Hb₉₈₁, Hb₉₈₂, Hb₉₈₃, Hb₉₈₄, Hb₉₈₅, Hb₉₈₆, Hb₉₈₇, Hb₉₈₈, Hb₉₈₉, Hb₉₉₀, Hb₉₉₁, Hb₉₉₂, Hb₉₉₃, Hb₉₉₄, Hb₉₉₅, Hb₉₉₆, Hb₉₉₇, Hb₉₉₈, Hb₉₉₉, Hb₁₀₀₀, Hb₁₀₀₁, Hb₁₀₀₂, Hb₁₀₀₃, Hb₁₀₀₄, Hb₁₀₀₅, Hb₁₀₀₆, Hb₁₀₀₇, Hb₁₀₀₈, Hb₁₀₀₉, Hb₁₀₁₀, Hb₁₀₁₁, Hb₁₀₁₂, Hb₁₀₁₃, Hb₁₀₁₄, Hb₁₀₁₅, Hb₁₀₁₆, Hb₁₀₁₇, Hb₁₀₁₈, Hb₁₀₁₉, Hb₁₀₂₀, Hb₁₀₂₁, Hb₁₀₂₂, Hb₁₀₂₃, Hb₁₀₂₄, Hb₁₀₂₅, Hb₁₀₂₆, Hb₁₀₂₇, Hb₁₀₂₈, Hb₁₀₂₉, Hb₁₀₃₀, Hb₁₀₃₁, Hb

Рис. 3.7.

Часть родословной с заболеванием Hb S/Hb C (Ranney 1954).

A — нормальный гемоглобин (Hb A); S — Hb S; C — Hb C, AS выявляется одновременно с Hb A и Hb S, CS вместе с Hb C и Hb S, кроме того, AC одновременно выявляется с Hb A и Hb C, ↑ — про-банд; I — 1-е поколение (родители), II — 2-е поколение (дети).



На рис. 3.7 иллюстрируется один из примеров этого исследования. На этом рисунке для каждого выявленного гемоглобина в отдельности: нормального гемоглобина, Hb S и Hb C соответственно вписаны A, S и C. Глядя на этот рисунок, становится понятным, что все виды гемоглобина: склонность к серповидноклеточности отца (AS), признак Hb C (AC) матери, а также выбранные комбинации двух видов из числа трех — A, S и C (AS, AC и CS) — проявляются в детях. Из этого можно сделать вывод, что A, S и C являются множественными аллелями.

Между тем в ходе выявления при помощи электрофореза одного за другим новых аномальных гемоглобинов стало известно, что нельзя соглашаться с теми, кто рассматривает эти аномальные гемоглобины, подобно Hb C и Hb S, в качестве образующих аллельные гены. Hb Hopkins-2 и Hb S — родословные, обследованные Smith и Torbert (1958). Hb Hopkins-2 представлял собой аномальный гемоглобин с более быстрой по сравнению с Hb A электрофоретической подвижностью в сторону анода.

Эта генеалогическая таблица иллюстрируется на рис. 3.8. Рассматривая эту генеалогическую таблицу (a), можно выявить, что из 7 детей, рожденных от матери (II₁), знак ↑), в крови которой имелся Hb Hopkins-2 и Hb S, но совсем отсутствовал Hb A, и от здорового отца (II₂), у двоих — (III₅, III₇, знак ↑) абсолютно идентично матери отсутствовал Hb A и одновременно присутствуют Hb Hopkins-2 и Hb S. Если бы locus на поверхности хромосомы Hb Hopkins-2 был бы идентичен соответствующему locusу Hb S (поскольку Hb S и Hb A являются аллельными генами), то должен был бы родиться индивид (III₆) с составом гемоглобина, одновременно отражающим переданный матерью ген Hb Hopkins-2 и приобретенные со стороны отца парные с геном Hb A одновременно сосуществующие Hb S и A. Однако в силу того, что locus, в котором должен был бы

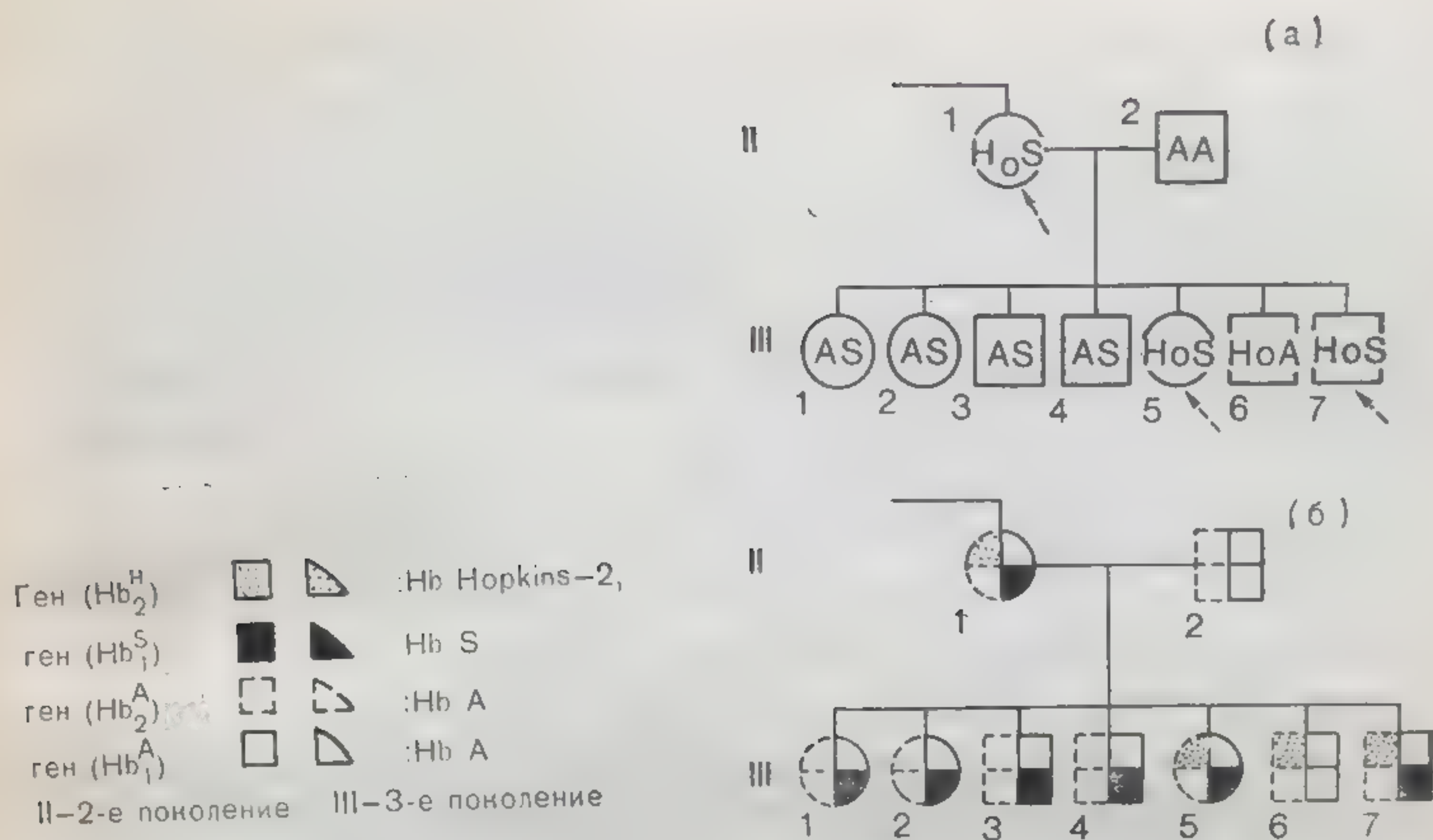


Рис. 3.8. Часть большой родословной, выявленной Smith — Torbert (1958), с заболеванием Hb Hopkins-2 (a) и Hb S (б). Были выявлены H_0 : Hb Hopkins-2, S: Hb S.

на рис. 3.9 (б). Очевидно, гены этих локусов производят: ген Hb_1^A — продукт Hb_1^A , ген Hb_1^C — продукт Hb_1^C , ген Hb_2^A — продукт Hb_2^A , ген Hb_2^G — продукт Hb_2^G . Далее, если полагать, что любой гемоглобин, сцепившись в паре с продуктами генов локуса Hb_1 и локуса Hb_2 , завершается в молекуле гемоглобина, то у индивида, обладающего четырьмя видами генов, подобно Hb_1^A , Hb_1^C , Hb_2^A , Hb_2^G , как это имеет место у I_1 (отец) и II_3 (дочь) на генеалогической таблице, казалось бы, более оправданным появление четырех видов гемоглобина, таких, как:

$$\begin{aligned} (1) Hb_1^A Hb_2^A &= HbA, & (2) Hb_1^A Hb_2^G &= HbG \\ (3) Hb_1^C Hb_2^A &= HbC & (4) Hb_1^C Hb_2^G &= HbX \end{aligned}$$

Если бы катодные электрические заряды этих четырех видов гемоглобина стали бы поочередно изменяться, то, вероятно, эти четыре зоны электрофоретической подвижности могли бы быть выявлены методом электрофореза.

Родословные, подобные этой, были также обнаружены и в других местах, и об этом были сделаны соответствующие научные сообщения (Atwater et al., 1960; Baglioni и Ingram, 1961; McCurdy et al., 1961; Pugh et al., 1964). Так

или иначе, факт участия двух генных локусов в процессе образования гемоглобина подтверждается генетически.

Итак, Weatherall и Baglioni (1962) столкнулись с примером, когда гемоглобин был выявлен не в крови взрослого человека, а в пуповинной крови новорожденного и состоял из четырех видов: Hb A, Hb G, Hb F, Hb X. Если исходя из аналогии с Hb A предположить, что к формированию Hb F также причастны два локуса, и допустить наличие четырех генов, как об этом упоминает Rarey с соавт. в примере с взрослым человеком (в том числе наличие Hb_1^A , Hb_2^A , Hb_2^G подтверждено на основании наблюдений, сделанных при выявлении Hb A и Hb G), то поскольку мутация относится к Hb_2^G , а именно к локусу Hb_2 , равным образом нельзя исключить предположения, что, несмотря на наличие в локусе Hb_2 этого новорожденного Hb_2^A и Hb_2^G , в локусе Hb_1 может содержаться Hb_1^F , формирующий Hb A и Hb F, или же в третьем локусе Hb_3 , отдельно от локуса Hb_1 , находится ген, который мы должны письменно обозначить Hb_3^F . А именно:

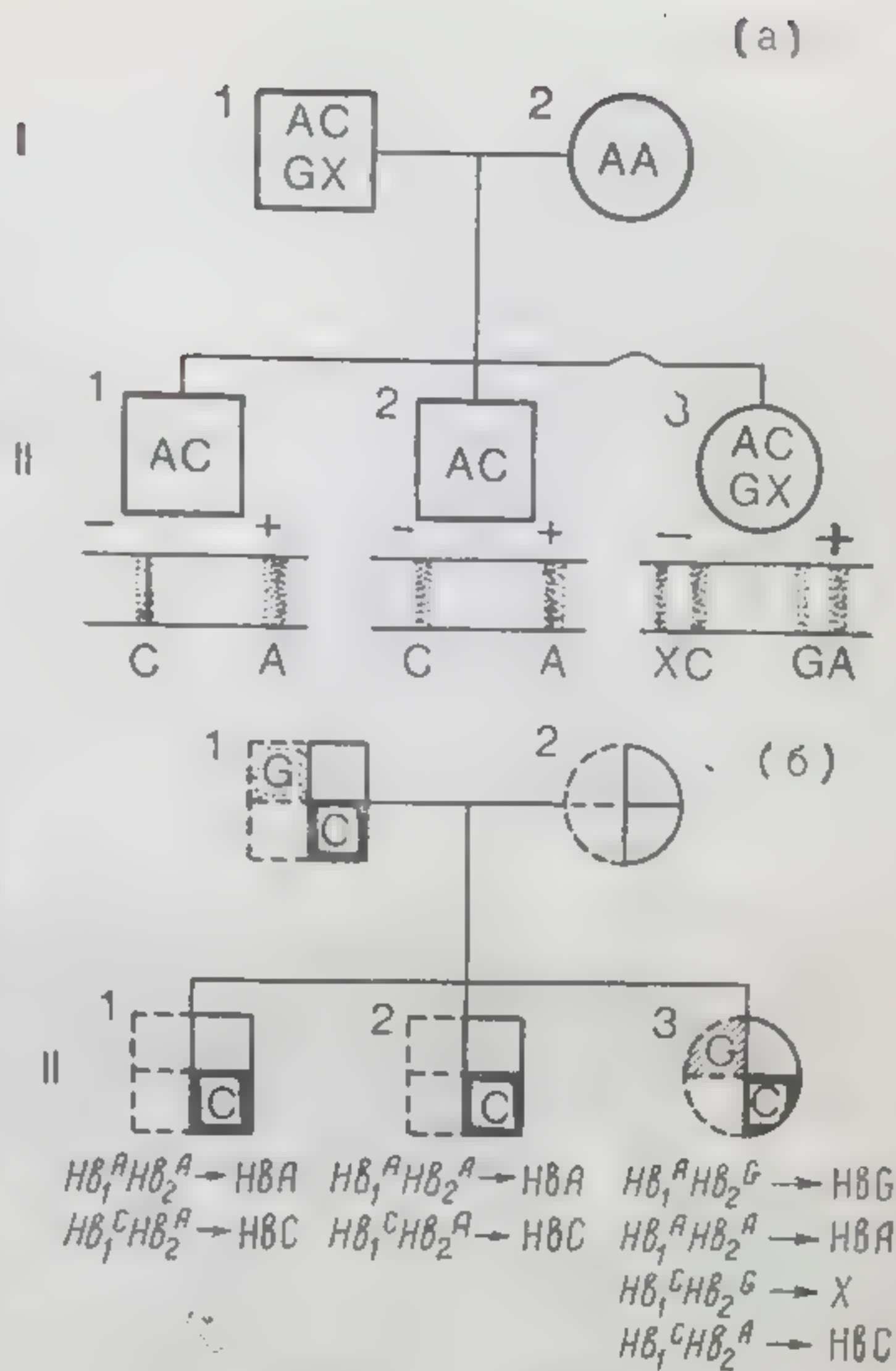
- (1) $HbA = Hb_1^A Hb_1^A$; (2) $HbG = Hb_1^A Hb_2^G$;
- (3) $HbF = Hb_1^F Hb_2^A$ или же $Hb_3^F Hb_2^A$;
- (4) $HbX = Hb_1^F Hb_2^G$ или же $Hb_3^F Hb_2^G$

Если рассматривать вопрос в той плоскости, что Hb F обладает отличающимися от всех аномальных гемоглобинов признаками (щелочеустойчивость, а также явная чувствительность триптофанового участка к разрушению), которые, как предполагается, обусловлены генными мутациями Hb A, Hb S, Hb C и др. в локусе Hb_1 , то, по-видимому, было бы более уместно предполагать наличие локуса Hb_3 . Вместе с тем правомерность такого предположения необходимо подтвердить химическим анализом гемоглобина.

Кроме того, среди взрослых индивидов этой родословной, обследованной Weatherall и Baglioni, были обнаружены обладатели четырех видов гемоглобина: Hb A, Hb G, Hb A₂ и Hb X, причем этот Hb X обладал еще меньшей подвижностью, чем Hb A₂. В данном случае можно также построить гипотезу аналогично той, что была описана выше: не является ли Hb A₂ — обусловленный геном Hb_2^A в локусе Hb_2 , и геном Hb_1^A в локусе Hb_1 , образующим Hb A₂,

Рис. 3.9.

Четыре вида гемоглобина (Hb A, Hb G, Hb C и Hb X), выявленные у идентичных людей в семье с аномальным гемоглобином (Raper et al., 1960).



или геном, расположенным отдельно в четвертой позиции локуса Hb_4 , который следует обозначить Hb_4^A — благодаря этому основным производителем гемоглобина? Можно думать, что это выглядит таким образом:

$$(1) HbA = Hb_1^A Hb_2^A; \quad (2) HbG = Hb_1^A Hb_2^G;$$

$$(3) HbA_2 = Hb_1^A Hb_2^A \quad \text{или} \quad Hb_4^A Hb_2^A;$$

$$(4) HbX = Hb_1^A Hb_2^G \quad \text{или} \quad Hb_4^A Hb_2^G.$$

Очевидно, у здорового взрослого человека, имеющего три вида гемоглобина, а именно: Hb A (основной компонент), Hb F (микрокомпонент) и Hb A₂ (микрокомпонент), имеется четыре генных локуса — локус Hb_2 (общий для всех трех видов гемоглобина), локус Hb_1 (относящийся к Hb A), локус Hb_3 (относящийся к Hb F) и локус Hb_4 (относящийся к Hb A₂).

В том числе можно сделать вывод о достоверности локусов Hb_1 и Hb_2 , тогда как генные локусы Hb_3 и Hb_4 ограничиваются лишь пределами предположений.

Талассемия представляет собой наследственное заболевание, при котором нарушается образование гемоглобина, что приводит к микроцитарной гипохромной анемии, сходной с железодефицитной анемией. Недостаточность железа не имеет отношения к этому заболеванию. Характерной его особенностью является то, что при применении препаратов железа анемия не исчезает, чем оно и отличается от железодефицитной анемии.

Если посмотреть на рис. 3.10, на котором представлена генеалогическая карта талассемии (Weatherall, 1964), то можно убедиться, что при талассемии не выявляется аномальных гемоглобинов. Вместе с тем состав нормального гемоглобина (пропорции Hb A, Hb A₂ и Hb F) изменяется. В частности, наблюдается увеличение Hb A₂ (он занимает свыше 3% общего гемоглобина). В части (а) этой карты вписано процентное соотношение Hb A₂ и Hb F. Если, сохраняя это в памяти, попытаться упорядочить индивидов, изображенных на этой генеалогической карте, то у отца (I₁) и у матери (I₂), как это помечено знаком Th, которые являются носителями гетерозиготности и обладателями генов талассемии (подавляющими ген Hb₁^A, находящийся в локусе Hb₁), образование основного компонента гемоглобина Hb A = Hb₁^A Hb₂^A вследствие дефицита продукта Hb₁^A становится затрудненным (поэтому может вызвать анемию). Соответственно повышается и соотношение Hb A₂ = Hb₂^A Hb₄^{A₂}, которое формируется благодаря продукту Hb₄^{A₂} в соответствующем локусе Hb₄^{A₂}.

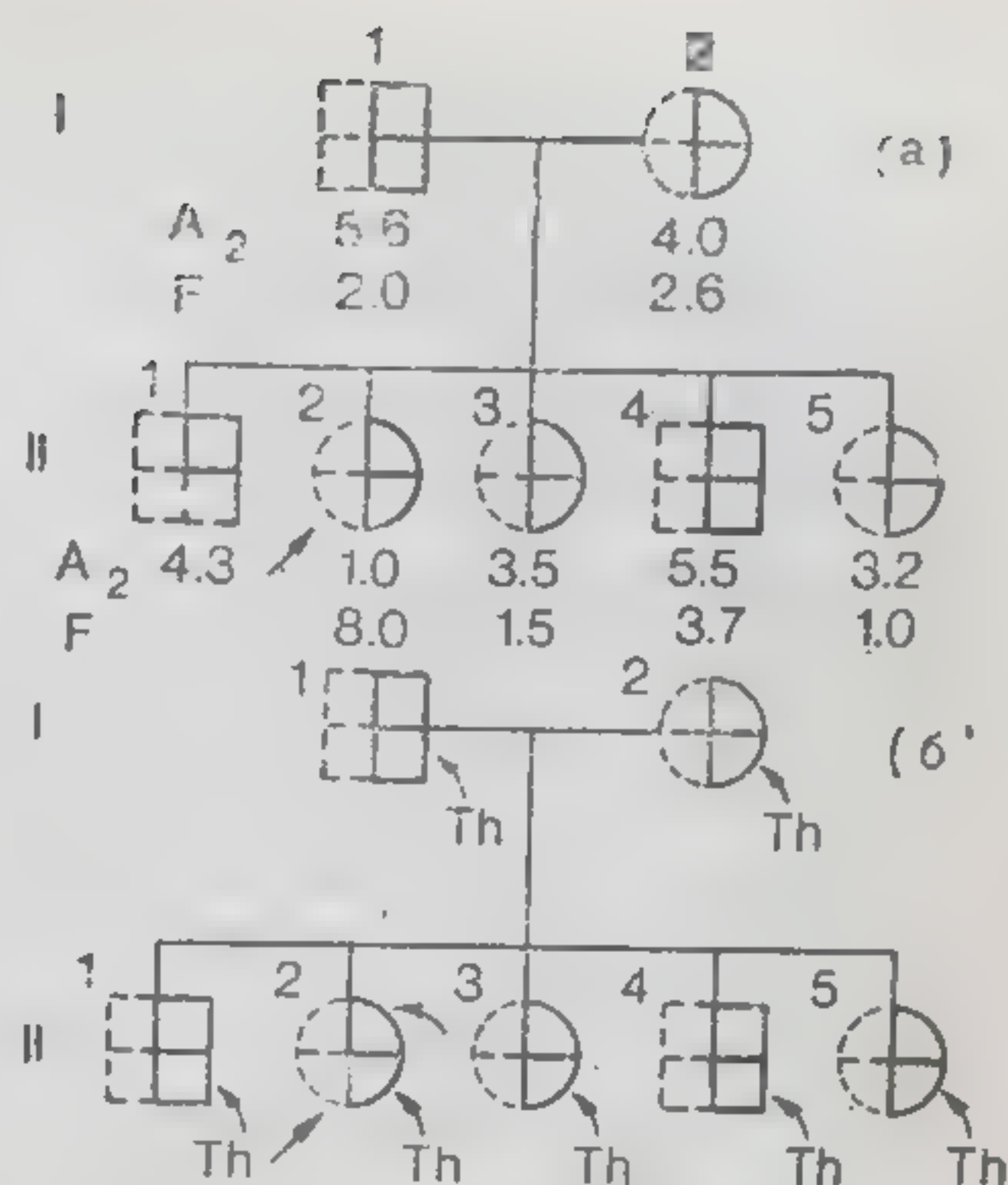
Точно так же и дети II₁, II₃, II₄ и II₅ являются гетерозиготами по талассемии. И только II₂ — гомозигот по талассемии — почти совсем не в состоянии производить Hb₁^A, в то же время отличается значительной недостаточностью Hb A = Hb₁^A Hb₂^A, ведущей к острой анемии. В это время, по всей вероятности, возобновляется синтез Hb F, который вырабатывался в эмбриональном периоде, что является компенсаторной реакцией, хотя и в незначительной мере, но препятствующей развитию анемии. Увеличивается формирование Hb₃^F, что в сочетании с Hb₂^A, который может вырабатываться, и при наличии Hb F = Hb₂^A Hb₃^F осуществляет компенсацию. Поэтому у II₂ содержание Hb F значительно превышает нормальные пределы (норма ниже 3.0).

Если предположить, что в этой родословной ген талассемии держит под контролем ген Hb₂^A, находящийся в локусе Hb₂, то объяснить увеличение Hb A₂ и Hb F оказывается невозможным. Между тем если ген талассемии в действительности обнаруживает подавляющее воздействие на ген гемоглобина, то обязательно должен существовать какой-то другой вид генного нарушения, при котором тормозится не только Hb₁^A, но и Hb₂^A, Hb₃^F, Hb₄^{A₂} и т. д. Короче говоря, добросовестно изучая и тщательно анализируя генеалогические карты при гемоглобинопатиях, мож-

Рис. 3.10.

Схема родословной с талассемией (Weatherall, 1964).

Процентное соотношение \square , \triangle Hb_A^A : Hb_A^A в общем гемоглобине процентное соотношение \square , \triangle Hb_F^A : Hb_F^A в общем гемоглобине. Ген Th гену талассемии (↘ показывает тормозящий локус) ↗ — пробанд (большая талассемия).



но построить предположение о наличии не одного генного локуса гемоглобина, а двух и более. По всей вероятности, имеется также несколько соответствующих им генотипов талассемии, при которых подавлены гены этих локусов. Очевидно, гены талассемии располагают отдельными локусами с генами $Hb_1^A \sim Hb_4^A$ и др.

3.3. СУБЪЕДИНИЦА МОЛЕКУЛЫ ГЕМОГЛОБИНА

В предыдущем параграфе была приведена гипотеза о гемоглобине с точки зрения генетики (генеалогический анализ), а именно: о вероятности создания молекулы гемоглобина в результате проявления активности двух пар генов — Hb_1^A и Hb_2^A — по отношению к $Hb A$, Hb_1^F и Hb_2^A или же Hb_3^F и Hb_2^A — по отношению к $Hb F$, $Hb_1^{A_2}$ и Hb_2^A или $Hb_4^{A_2}$ и Hb_2^A — по отношению к $Hb A_2$ и т. д. В данном же параграфе будет сделана попытка провести исследование путем химического анализа гемоглобина, с тем чтобы проверить, оправдывается ли данное предположение.

Если допустить, что один ген обуславливает синтез одной присущей ему полипептидной цепи, то существование двух пар генов гемоглобина — это не что иное, как намек на возможность создания одной молекулы гемоглобина путем соединения четырех полипептидов, которые образовались автономно по одному в отдельности. Вероятно, химический анализ гемоглобина послужит поддержкой для такого рода гипотезы.

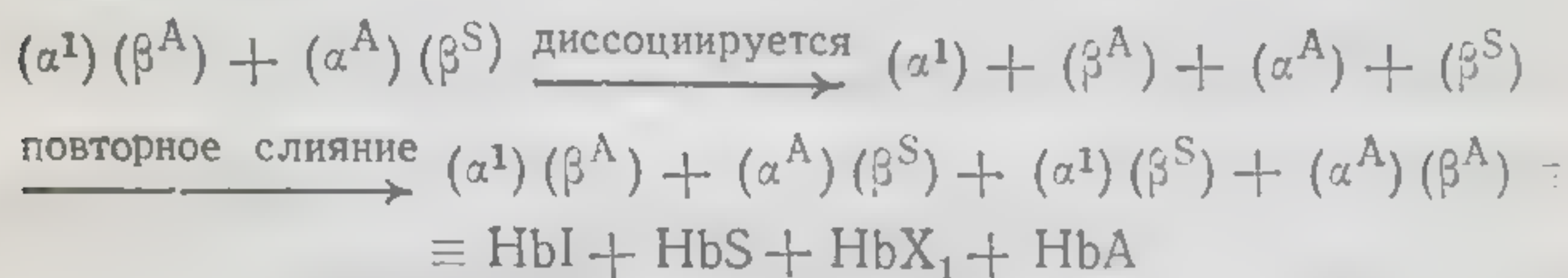
а) Эксперимент по созданию гибридов

Самые первые результаты химического анализа применительно к данной гипотезе были получены приблизительно в то же время, когда Smith и Torbert (1958), основываясь на обследовании огромной родословной Hb Hopkins-2, проникли в суть влияния двух пар локусов на ген гемоглобина. И тогда Field и O'Brien (1955), подвергнув монооксикарбоновый раствор гемоглобина Hb (COHb) электрофорезу по методу Тизелиуса и осуществив тщательное и глубокое его изучение, обнаружили, что в среде с pH 3,5~6,0 молекула гемоглобина подвергается обратному распаду на субмолекулы, размер которых представляет как раз половину исходной молекулы, причем это явление особенно ускоряется при добавлении в раствор мочевины.

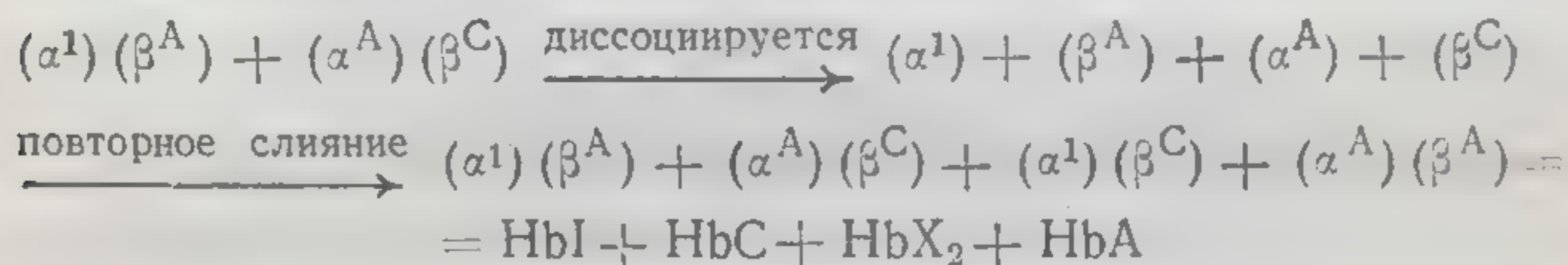
Основываясь на этом наблюдении, Itano и Robinson (1959) провели эксперимент, в котором они смешивали два вида гемоглобина из числа Hb A, Hb I, Hb S и Hb C и, оставляя эту смесь на 4 ч при pH 4,7 (5°C), подвергали эти молекулы гемоглобина диссоциации, после чего, возвращая эту смесь в pH 6,3 (20-часовой диализ), подвергали ее электрофорезу по методу Тизелиуса. В результате они открыли, что, помимо старых, ранее обнаруженных аномальных гемоглобинов (Hb I, а также Hb S или Hb C), в кислото-(pH 4,7) диссоциированной — нейтральной (pH 6,3) возвратной смеси Hb I и Hb S или Hb C обнаруживаются компоненты новых аномальных гемоглобинов, которых не существует в природе. Они объяснили это таким образом, что нормальный гемоглобин Hb A образуется из двух видов полипептидов (α) и (β), т. е. HbA — это (α^A) (β^A). Точно так же Hb I образуется из двух видов полипептидов, причем его (α^A) соответствует аномальный полипептид (α^1), который имеет ненормальный электрический заряд (сравнительно большой электроотрицательный заряд), а β^A -цепь, как считают, аналогична цепи нормального гемоглобина, т. е. Hb I — это (α^1) (β^A). Между тем Hb S и Hb C в отличие от Hb I обнаруживают неодинаковую с Hb A электрофоретическую подвижность [в связи с тем, что соответствующая цепь (β^A) — аномальна], и предполагается, что Hb S = (α^A) (β^S), Hb C = (α^A) (β^C) и т. д. Если это так, то смесь Hb I + Hb S и смесь Hb I + Hb C, диссоциируясь в кислой среде, как это показано ниже, при возврате в нейтральную среду (pH 6,3) подвергает диссоциированные продукты рекомбинации и, помимо старых гемо-

глобинов, Hb I и Hb S, Hb I и Hb C порождают новые гемоглобины, рекомбинированные в результате взаимного замещения (α) и (β), а также вырабатывают и нормальный гемоглобин Hb A, причем, как утверждают, по разнице в электрофоретической подвижности можно распознать всего четыре вида гемоглобина.

(i) Hb I + Hb S



(ii) Hb I + Hb C



Hb X₁ и Hb X₂ являются гибридными (Hb I и Hb S или с Hb C) гемоглобинами, которые образовались благодаря искусственной рекомбинации, и в природе такие гемоглобины не существуют.

Эксперименты по образованию таких гибридных гемоглобинов, осуществленные Itano с соавт., были посвящены также смесям из других видов гемоглобина и подтвердили правильность вышеупомянутого предположения. Так, например, выяснилось также, что Hb Hopkins-2, аналогично Hb I, образует промежуточный между Hb S гибрид Hb X₃ [$= (\alpha^{\text{H}_0})(\beta^S)$] и Hb A (Lehmann, 1960).

Таким образом, факт образования молекул как нормального гемоглобина Hb A, так и аномальных гемоглобинов (Hb S, Hb C, Hb I, Hb Hopkins-2 и др.) из двух видов субъединиц подтвердился также на основании химического анализа.

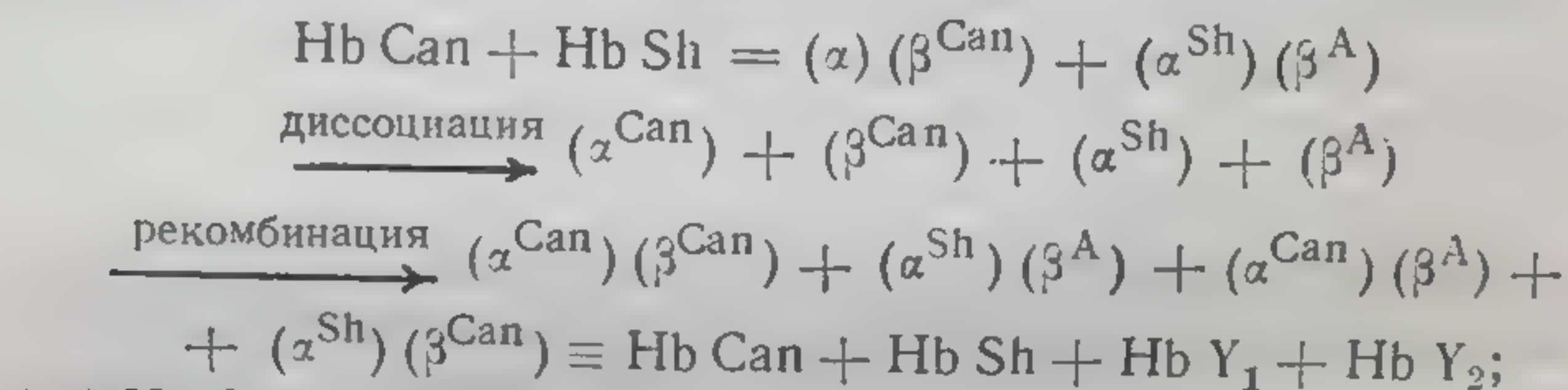
Эксперименты Itano с соавт., которые вначале называли «экспериментами по диссоциации и рекомбинации», а позднее — «тестом на гибридизацию», нашли себе применение в качестве удобного средства выявления аномальных полипептидов [как, например, (α^1), (β^S) (β^C) и др.] в аномальных гемоглобинах.

А именно предполагается (Lehmann, 1960), что если к аномальному гемоглобину с хорошо известной аномалией в полипептидной цепи [например, Hb S имеет полипептид-

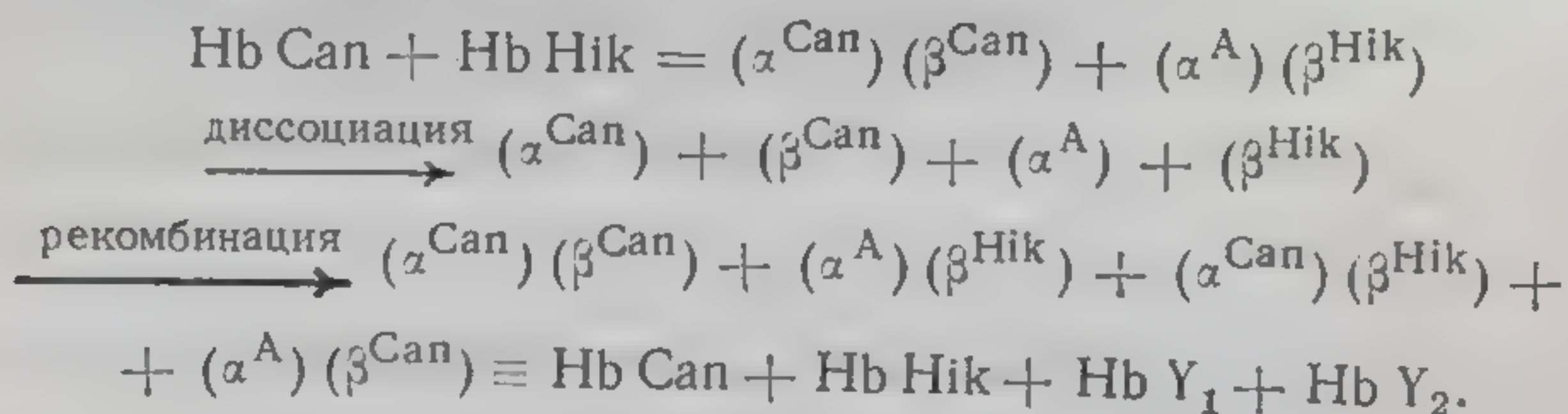
ную цепь (β^S), которая отличается от β^A в составе Hb A] примешать аномальный гемоглобин с неизвестной полипептидной цепью (предположим, возьмем для этого Hb I), и в процессе «диссоциации и рекомбинации» среди четырех видов гемоглобина обнаружится Hb A, то гемоглобин с неизвестной аномалией в полипептидной цепи (в данном случае Hb I) будет обладать аномалией как раз в противоположной цепи с той, аномалия которой нам хорошо известна (здесь это аномалия α -полипептида) [см. формулу (i)].

Позднее в тестах по гибридизации вместо аномальных гемоглобинов с уже известными аномалиями в цепях стали использовать гемоглобин собаки Hb Can = $(\alpha^{Can}) (\beta^{Can})$. А вместо электрофореза по методу Тизелиуса стали применять агаровый электрофорез (Shibata, Iuchi et al., 1962), а также электрофорез в крахмальном геле (Huehns, Shooter, 1962). И в конце концов анализ гемоглобина с аномалиями в полипептидных цепях стал более удобным и усовершенствованным. На примере это будет выглядеть так (Shibata, Iuchi et al., 1962):

(iii) Hb Can + Hb Shimonoseki



(iv) Hb Can + Hb Hikari



В то же время если осуществлять диссоциацию и рекомбинацию $\text{Hb Can} + \text{Hb A} = (\alpha^{Can}) (\beta^{Can}) + (\alpha^A) (\beta^A)$ и подвергнуть эту смесь электрофорезу, причем для сопоставления сделать расстановку, как это показано на диаграммах рис. 3.11, то в пункте (iii) Hb Y₂ не согласовывается с $(\alpha^A) (\beta^{Can})$: они образуют электрофоретические зоны с наибольшими отклонениями в сторону катода. Поэтому если принять, что полипептид (α^{Sh}) , соответствующий (α^A) , является аномальным, то в пункте (iv) в связи с

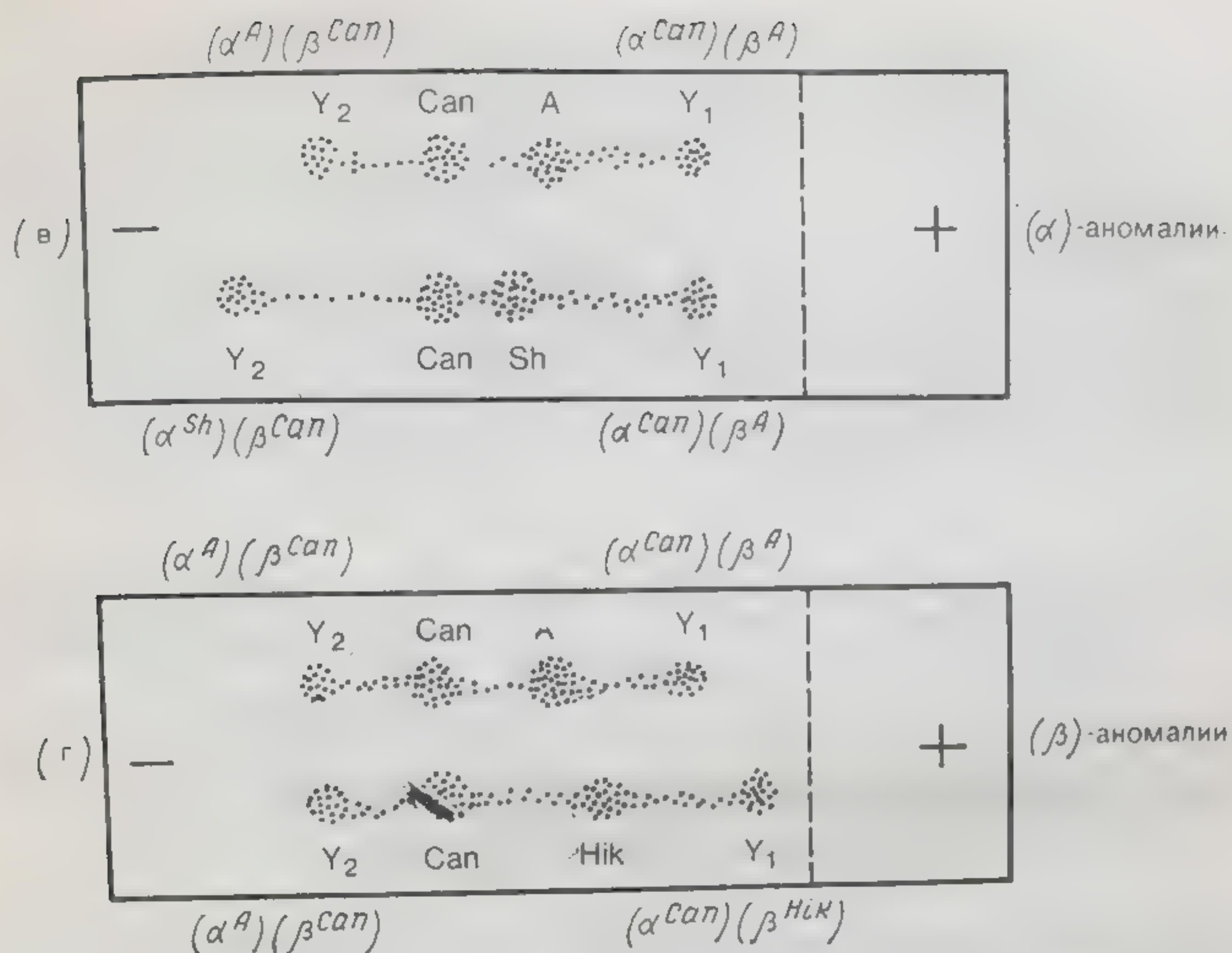


Рис. 3.11. Эксперимент по гибриднему формированию гемоглобина собаки Hb Can = $(\alpha^{Can})(\beta^{Can})$ и аномального гемоглобина Hb Shimonoseki = $(\alpha^{Sh})(\beta^A)$, а также Hb Hikari $(\alpha^A)(\beta^{Hik})$ (электрофорез в агаровом геле, при pH 6,8).

Гибридный гемоглобин Y_1 : Hb Can, содержащий (β) полипептид гемоглобина человека и полипептид α^{Can} , гибридный гемоглобин Y_2 : Hb Can, содержащий (β^{Can}) и гемоглобин человека (α) . (α^{Can}) имеет больший отрицательный электрический заряд, чем (α^A) , и (β^{Can}) имеет меньший отрицательный электрический заряд, чем (β^A) ; значит, Hb Can как таковой является медленно движущимся по сравнению с Hb A.

тем, что Hb Y_1 представляет собой $(\alpha^{Can})(\beta^A)$ [они образуют электрофоретические зоны с отклонением в сторону анода], можно предполагать, что полипептид (β^{Hik}) , который должен соответствовать (β^A) , является аномальным полипептидом.

На основании изложенного становится очевидным, что гемоглобин — нормальный или аномальный — является полимером двух видов полипептидных цепей, что вполне оправдывает предположение о двух парах генов в гемоглобине.

Между тем факт образования гемоглобина из двух видов полипептидных цепей в действительности подтверждается также более поздними данными, основанными на различных химических операциях, о которых будет говориться ниже.

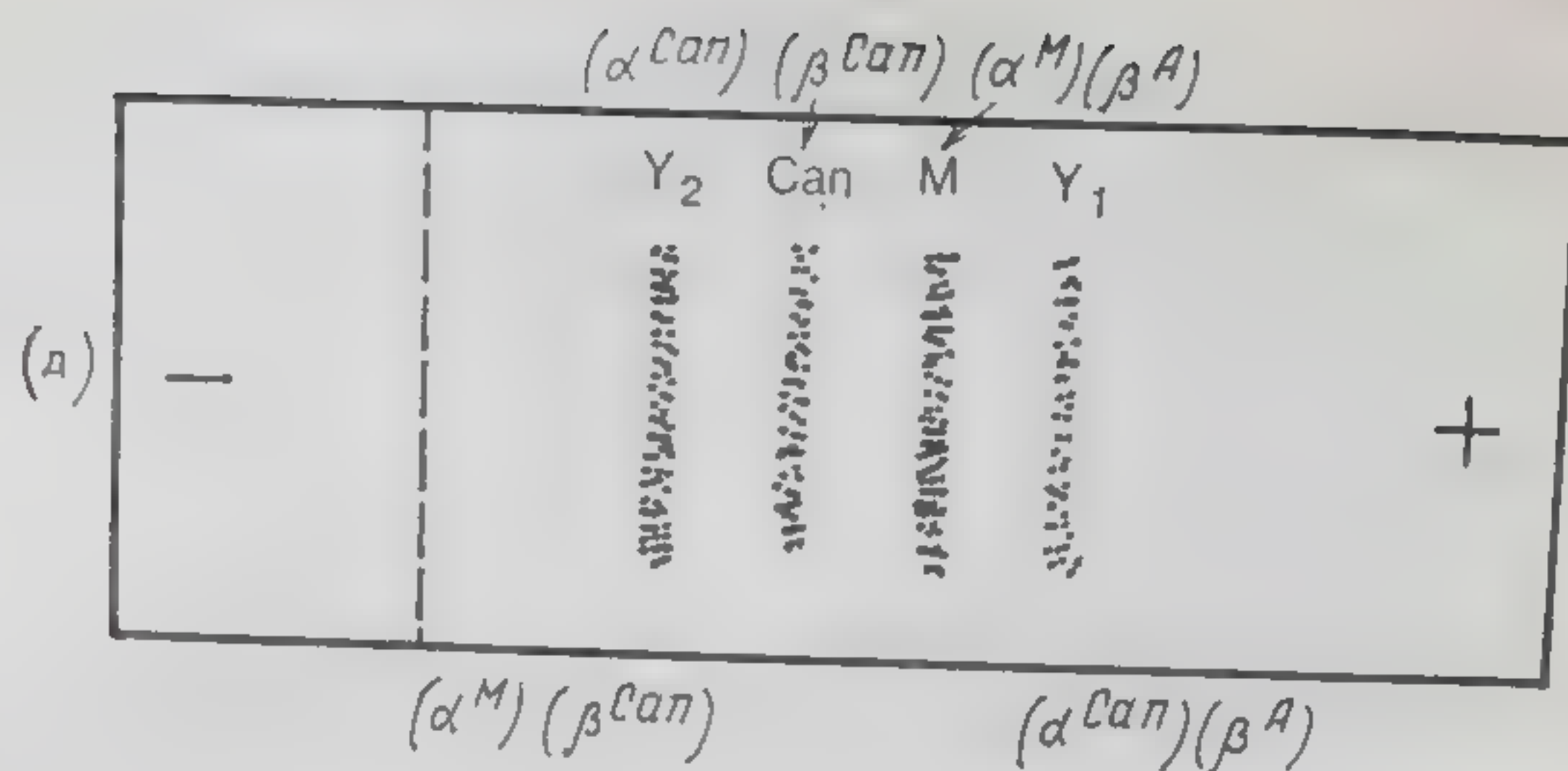


Рис. 3.12. Эксперимент по гибриднему формированию Hb M Iwate = $(\alpha^M)(\beta^A)$ и Hb Can = $(\alpha^{Can})(\beta^{Can})$ (электрофорез в крахмальном геле, pH 6,8).

б) Эксперимент по гибридизации Hb M Iwate и гемоглобина собаки (Hb Can)

Hb M Iwate представляет собой аномальный гемоглобин при наследственном заболевании, обнаруженный в преф. Иватэ; в венозной крови он имеет оттенок шоколадного цвета, отличающийся от обычного черного оттенка. После того как этот гемоглобин подвергли гибридизации с Hb Can и провели электрофорез в крахмальном геле (pH 6,8, 8,6), было обнаружено, как это показано на рис. 3.12, что возникают четыре различающиеся электрофоретические зоны в порядке направления со стороны анода к катоду Hb Y₁ = $(\alpha^{Can})(\beta^A)$, Hb M Iwate, Hb Can, Hb Y₂ = $(\alpha^M)(\beta^{Can})$. В том числе Hb M Iwate и Hb Y₂ = $(\alpha^M)(\beta^{Can})$ имеют одинаковый оттенок — черный, а Hb Y₁ $(\alpha^{Can})(\beta^A)$ и Hb Can — красный.

Эти результаты показывают, что молекула Hb M Iwate представляет собой полимер красного полипептида и черного полипептида, т. е. образуется из двух видов гетерогенных полипептидных цепей. Далее, легко построить предположение, что красный пептид — это (β) , а черный пептид — это (α) (Iuchi, Takeda et al., 1964).

в) Электрофорез и хроматография при диссоциации Hb A мочевиной

Хотя Field и O'Brien (1955) уже раньше обратили внимание на то, что диссоциация нормального гемоглобина Hb A при помощи кислоты ускоряется благодаря мочеви- не, тем не менее если поместить гемоглобин и глобин в

Рис. 3.13.

Электрофорез на фильтровальной бумаге Hb A (pH 8,6), без добавления мочевины (f), электрофорез на фильтровальной бумаге распада мочевины (6 M) Hb A (при pH 8,6) (f), где A расщепляется на (α) и (β).

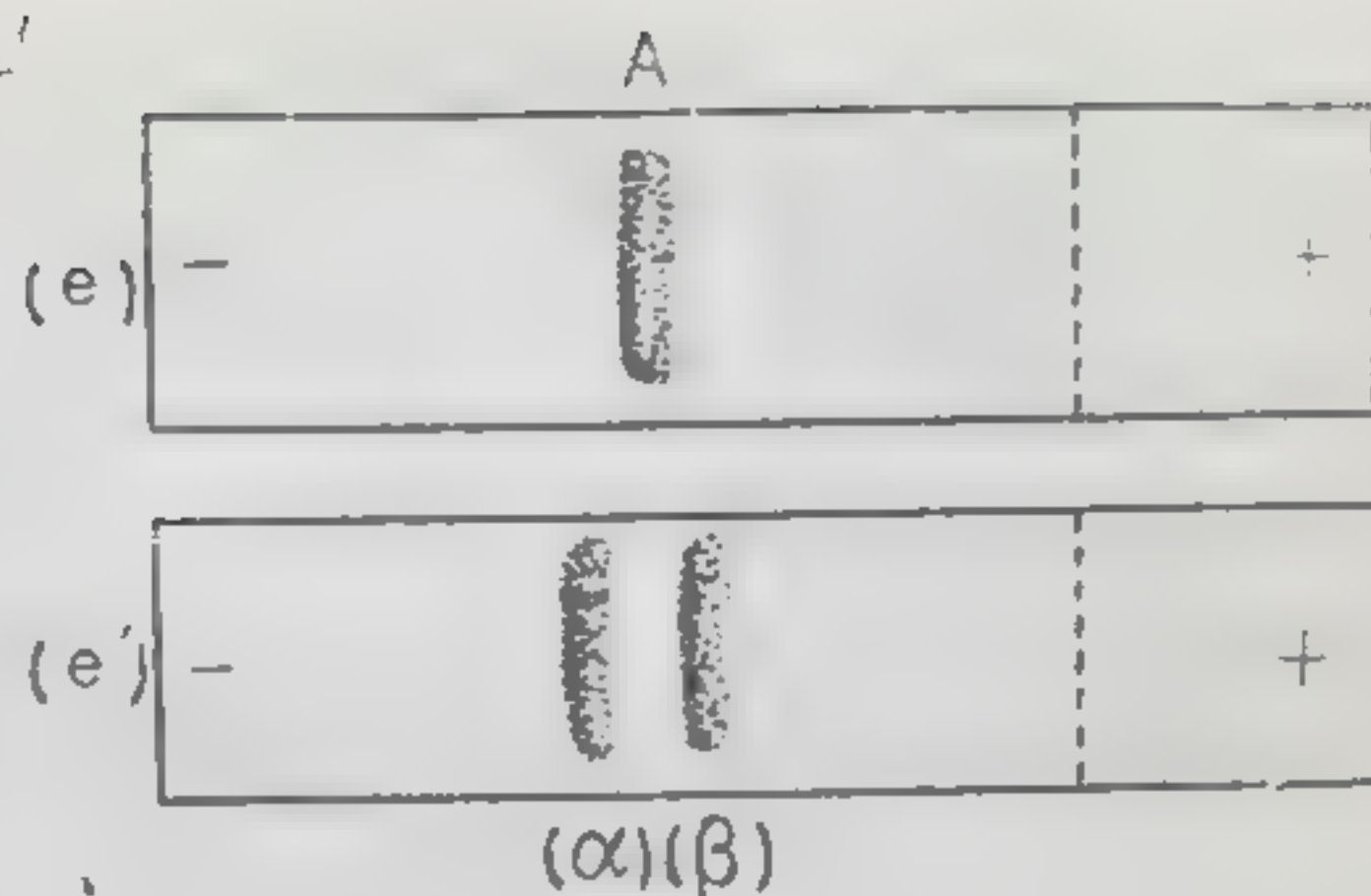
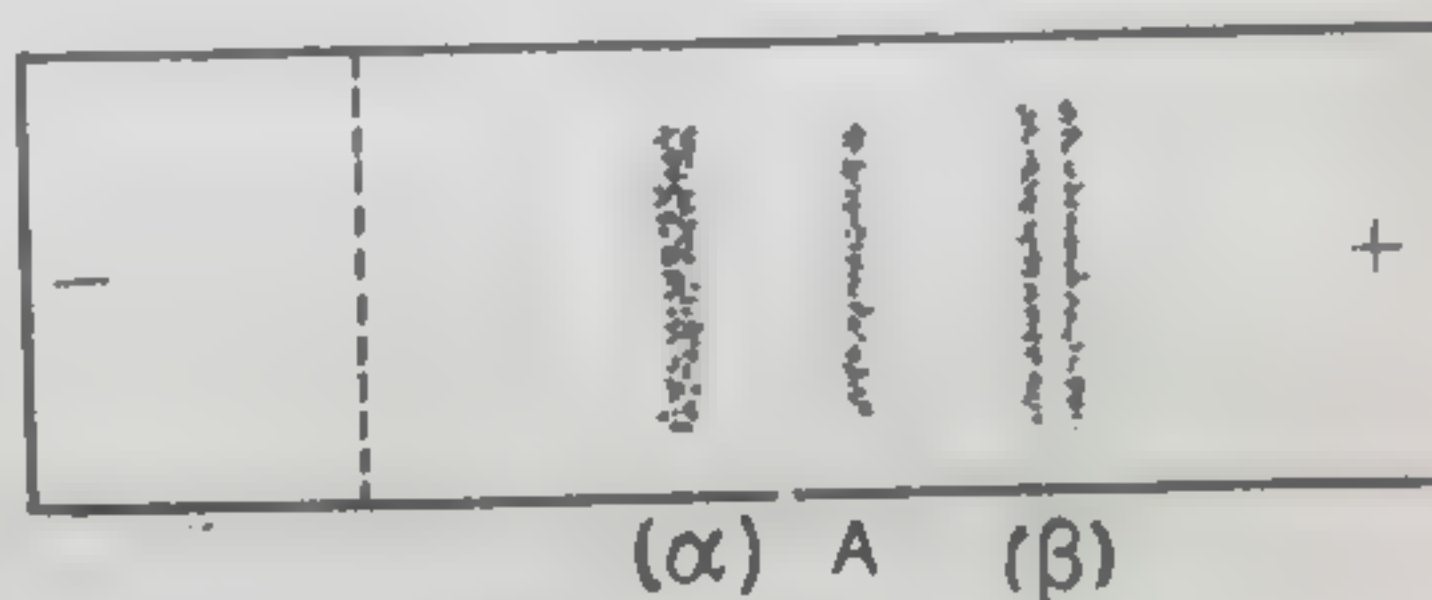


Рис. 3.14.

Эксперимент по наблюдению за электрофорезом в крахмальном геле (при pH 8,6) над Hb A после обработки его РСМВ.



раствор мочевины, то при электрофорезе на фильтровальной бумаге (pH 8,6) (Take, 1961), как это показано на рис. 3.13, образуются две электрофоретические полосы. Если электрофоретическую полосу, которая по подвижности ближе к аноду, назвать (β), а полосу, приближающуюся к стороне катода, — (α), то можно будет утверждать, что Hb A вырабатывается из двух видов полипептидов (β^A) и (α^A), которые изменяют катодный электрический заряд. Исходя из этого же становится очевидным, что молекула гемоглобина образуется из двух видов субъединиц.

При выявлении диссоциированных полипептидных цепей, когда используется электрофорез в крахмальном геле (Chernoff, Pettit, 1964) и электрофорез на целлюлозно-ацетатной пленке (Ueda, Schneider, 1969), картина получается еще более отчетливой. При использовании этих методов применительно к аномальным гемоглобинам в некоторых случаях (β) не совпадает с (β^A), в других случаях (α) обнаруживает расхождение с (α^A) по степени электрофоретической подвижности, поэтому есть возможность строить гипотезы о наличии аномалий в β -цепи или в α -цепи. При любых обстоятельствах этими способами можно подтвердить, что молекула аномального гемоглобина также образуется из двух видов субъединиц.

Диссоциированные полипептиды (α) и (β) также могут разделяться либо при использовании хроматографии на колонках с добавлением 8-молярного элюента мочевины в амберлит IRC 50 (pH 1,9) с элюцией раствором мочевины

2 M → 5 M → 8 M (Chernoff, 1961, 1965), либо при применении хроматографии на колонках с добавлением 8-молярного элемента мочевины в карбоксиметилцеллюлозу (pH 6,8) с элюированием буферным раствором 0,005 M → 0,04 M фосфорнокислого натрия, содержащего в 0,05 M 2-меркаптоэтанола, с Na-градиентом (Clegg et al., 1968). При хроматографии на колонках с использованием амберлита IRC 50(α) вымывается раньше, чем (β), и они дают хорошо разделенные пики. При хроматографии с использованием карбоксиметилцеллюлозы (β) освобождается раньше, а (α) выходит из колонки позднее. Во всяком случае на основании этого мы тоже можем видеть, что гемоглобин образуется из двух видов полипептидов, состоящих из (α) и (β).

Можно также отметить, что на основе противоточного распределения (Hill et al., 1962) (α) и (β) поддаются сепарационному рафинированию, которое отличается высокой степенью чистоты.

г) Хроматография с использованием диссоциации РСМВ и электрофорез в крахмальном геле

Bucci и Fronticelli (1965), добавляя к раствору карбоксигемоглобина (CONb) РСМВ (пентахлоробензойнокислую ртуть) (РСМВ/CONb = 8 M/M), открыли, что молекула гемоглобина распадается на (α) и (β). Используя этот факт, они добились разделения этих двух видов полипептидных цепей при помощи хроматографии на карбоксиметилцеллюлозе (Bucci, Fronticelli, 1965; Tyuma et al., 1966).

Если подвергнуть раствор гемоглобина, обработанный РСМВ, электрофорезу в крахмальном геле, то получатся три электрофоретические зоны. Как это проиллюстрировано на рис. 3.14, они расположатся в следующем порядке по направлению от анода к катоду — (β), недиссоциированный гемоглобин (A) и (α) (Ohba et al., 1966). Если взять обработанный РСМВ гемолизат крови больного, страдающего гемохроматозом, т. е. крови, в которой одновременно содержатся и аномальные, и нормальные гемоглобины, и подвергнуть этот гемолизат электрофорезу в крахмальном геле при pH 8,6, а затем изучить положение добавочных электрофоретических зон, обнаруженных при этом и не выявляемых в обычных условиях, то можно будет предположительно оценить, какая из цепей — (α)

или (β) — аномальна. Таким образом, в очень небольшом количестве гемолизата можно выявить аномальную цепь, не затрачивая времени на рафинирование аномальных гемоглобинов (Ohba et al., 1966).

**д) Разделение (α) и (β) способом диссоциации
глобина с последующим осаждением
трихлоруксусной кислотой или при помощи диализа**

Hayashi (1961) растворял глобин в растворе мочевины (8 М), подвергал диссоциации (α) и (β), затем, добавив трихлоруксусную кислоту (в 1 М), оставлял раствор на 5 ~ 10 ч. Убедившись, что (β) осаждается, а (α) остается в верхнем очищенном слое жидкости, он успешно разделил их при помощи центрифугирования.

Matsuda с соавт. (1961), используя метод Anson—Mirsky, извлек из Hb F гем и получил раствор глобина, затем, поместив его в диализатор (20/32), подверг его 20-часовому диализу H_2O (рН 3,8 ~ 4,5; 0 ~ 5°C), причем во внешнюю камеру переходила (α), а во внутренней оставался другой полипептид (γ). Таким образом удалось добиться разделения и того, и другого, хотя основа этого явления стала понятной позднее: (α), образуя простую цепь, имеет небольшую величину молекулы, а (γ), будучи в полимеризованном состоянии, является большой молекулой, поэтому в результате диализа через мембрану можно было разделить обе эти цепи.

Выше в параграфах от а) до д) были представлены доказательства того, что молекула гемоглобина в каждом случае образуется из двух видов отличающихся друг от друга полипептидных цепей. Вместе с развитием непосредственных химических анализов на эту тему, точнее, вместе с прогрессом в изучении аминокислотного анализа гемоглобина, постепенно были достигнуты результаты, которые поддерживали предположение о молекуле гемоглобина как о полимере, состоящем из двух видов полипептидных цепей.

Даже при попытке подвергнуть гемоглобин в его неизменном виде гидролизу, а его гидролизат — аминокислотному анализу не удалось получить никаких осознанных заключений (Huisman, 1958). Porter и Sanger (1948), применяя метод анализа с маркированием полипептидных цепей гемоглобина с N-конца динитрофенолом, обратили внимание на то, что эти белковые тела образуются из многочисленных полипептидных цепей. Непосредственно вслед

за этим Сатакэ (1955) уточнил, что две пары полипептидных цепей образуют молекулу гемоглобина (Тая, 1961). Он утверждал, что в том числе одна пара образует аминокислотное расположение Вал·Лей... (А-цепь), а другая пара обладает неодинаковым с этим расположением аминокислот (В-цепь). Затем Rhinesmith с соавт. (1957) обнаружили α -цепь, образованную из Вал·Лей..., и β -цепь, образованную из Вал·Гис·Лей, и отсюда прояснилось, что гемоглобин (Hb A) представляет собой полимер из двух видов полипептидов (α) и (β), которые должны письменно обозначаться $\alpha_2\beta_2$.

Позднее Schroeder и Matsuda (1958) уточнили, что в Hb F, помимо α -цепи (Вал·Лей...), имеется еще полипептидная цепь с Гли на N-конце, а Hunt (1959) пояснил, что α -цепь в составе Hb F представляет собой аналог α -цепи в составе Hb A, и этой, стоящей под вторым номером цепи (Гли...), дали наименование γ -цепи. Стало понятно, что Hb F представляет собой $\alpha_2\gamma_2$.

Далее, Ingram и Stretton (1961) подтвердили, что Hb A₂ представляет собой $\alpha_2\delta_2$, в которой содержатся α -цепь и δ -цепь, которая, несмотря на большое сходство с β -цепью, все же несколько отличается от нее. Таким образом, выяснилось, что эти гемоглобины представляют собой следующие комплексы:



из чего стало ясно, что описанная выше (α) совпадает с α_2 , а (β) совпадает с β_2 . Кроме того, что касается генных локусов (Hb_1^A , Hb_2^A , Hb_3^F , $\text{Hb}_4^{A_2}$ и др.) гемоглобинов (Hb A, Hb A₂, Hb F и др.), описанных в предыдущем параграфе, то если их сопоставить с полипептидными цепями (β , α , γ , δ), описанными в этой главе, станет очевидным, что локус гена Hb_1^A соответствует позиции локуса β -цепи, Hb_2^A — позиции локуса α -цепи, Hb_3^F — позиции локуса γ -цепи, а $\text{Hb}_4^{A_2}$ — позиции локуса δ -цепи. Поэтому решено было впредь записывать позиции генных локусов Hb_α^A , Hb_β^A , Hb_γ^F и $\text{Hb}_\delta^{A_2}$, или же Hb_α , Hb_β , Hb_γ и Hb_δ .

Расположение аминокислот в α -цепи, β -цепи, γ -цепи и δ -цепи было определено до 1965 г. на основании химического анализа Braunitzer с соавт. (1961), Konigsberg с соавт. (1961); Schroeder с соавт. (1962) и Ingram (1963) с соавт. Если кратко объединить полученные сведения, то α -цепь имеет 141 аминокислотный остаток; β -, γ - и δ -цепи

№	1 Вал Лей
	Сер
	Про
5	Ала Асп
	Асп Ала
	Лиз
	Тре
	Асп
10	Вал
	Лиз
	Ала Асп
	Ала
	Три
15	Гли Асп
	Лиз Гли
	Вал
	Гли
AB	Ала
20	Гис
	Ала
	Гли Асп
	Гли Лиз
25	Тир
	Гли
	Ала
	Гли
	Ала
30	Лей
	Гли Гли
	Арг
	Мет
	Фен
35	Лей
	Сер
	Фен
	Про
	Тре
	Тре

Таблица 3.1

Расположение аминокислот α -цепи и β -цепи
(спирали А, В..., а также нон-спирали NA, AB, CD...) и замещение аминокислот аномального гемоглобина
(тип Годзика)

α		β	
Na	1 Вал Лей	Na	1. Вал Гис Лей
A	Сер	A	Тре
	Про		5 Про
	5 Ала Асп J Торонто		Глу Лиз С, О Лейден,
	Асп Ала Савара		Вал S Ала G Макас-
	Лиз		сар, Гли Омори
	Тре		Глу Гли G Сан-Хосе,
	Асп		Лиз Siriraj
	10 Вал		Лиз
	Лиз		Сер Цис Porto Alegre
	Ала Асп J Париж		10 Ала
	Ала		Вал
	Три		Тре
	15 Гли Асп J Оксфорд		Ала
	Лиз Глу I		Лей Арг Sogn
	Вал		15 Три
	Гли		Гли Арг Buchman Асп J
B	AB Ала		Балтимор
	20 Гис		Лиз Глу Нагасаки
	Ала		Вал
	Гли Асп J Медельин		Асп
	Глу Лиз Чад, Вал G		20 Вал
	Аудхали		Асп
	Гли Мемфис		Глу Лиз E Саскатун,
	Тир		Гли G Тайпэй
	25 Гли		Ала G Кушат-
	Ала		та
	Глу		Вал О Фрейбург
	Ала		Гли Арг Riverdale-Bronx,
	Лей		Вал Саванна
	30 Глу Гли G китаец		25 Гли Арг G Тайван Ами
	Арг		Глу Лиз E
	Мет		Ала
	Фен		Лей Про Генуя, Гли Сен-
	Лей		Луи
	35 Сер		Гли
	Фен		30 Арг Сер Такома
	Про		Лей
	Тре		Лей Про Перт
	Тре		Вал
			Вал

α	β
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">C ↓</div> <div> 40 Лиз 41 Тре Тир </div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">C ↓</div> <div> 35 Тир Фен <i>Philly</i> Про Три Сер <i>Хиросэ</i> Тре Гли 40 Арг Фен </div> </div>
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">CD ↓</div> <div> Фен Вал <i>Турин</i> Про 45 Гис Фен Асп Гис <i>Hasharon</i> <i>(Sealy)</i> Гли <i>L Феррара (Коккура)</i> Лей Сер </div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">CD ↓</div> <div> Фен Лей <i>Бухарест</i>, Сер <i>Гаммер — Смит</i> Глу Ала <i>G Галвестон</i> Сер 45 Фен (43—45→<i>O Нитерой</i>) Гли Глу <i>K Ибадан</i> Асп Асп <i>G Копенгаген</i> Лей Сер </div> </div>
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">D ↓</div> <div> 50 Гис Асп <i>J Сардегна</i> Гли Арг <i>Русс</i>, Асп <i>J Абиджан</i> </div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">D ↓</div> <div> 50 Тре Про Асп Асп <i>Осу—Кристиансборг</i> </div> </div>
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">E ↓</div> <div> Сер Ала Гли Глу <i>J</i>, Арг <i>Симоносэки</i> 55 Вал Лиз Гли Арг <i>L Персидский залив</i>, <i>Асп Норфолк</i> Гис Тир <i>M Бостон</i> Гли 60 Лиз Асп <i>Замбия</i> Лиз Вал Ала Асп Гис <i>Q, Индия</i> 65 Ала Лей Тре Асп Лиз <i>G Филадельфия</i>, Асп <i>Убе-2</i> Ала 70 Вал Ала </div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">D ↓</div> <div> 50 Тре Про Асп Асп <i>Осу—Кристиансборг</i> Ала Вал 55 Мет Гли Асп <i>J Бангкок</i>, Асп <i>J Корат</i> </div> </div>
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">E ↓</div> <div> Гис Тир <i>M Бостон</i> Гли 60 Лиз Асп <i>Замбия</i> Лиз Вал Ала Асп Гис <i>Q, Индия</i> 65 Ала Лей Тре Асп Лиз <i>G Филадельфия</i>, Асп <i>Убе-2</i> Ала 70 Вал Ала </div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">E ↓</div> <div> Асп (56 ~ 59→<i>O Тотиги</i>) Про Арг <i>Дхофар</i>, Арг <i>Юкухаси</i> Лиз Тре <i>J. Kaohsiung</i> 60 Вал Лиз Асп <i>Хикари</i>, Глу <i>N Сиэтл</i> Ала Гис. Тир <i>M Саскатун</i>, Арг <i>Дюрих</i> Гли 65 Лиз Лиз Глу <i>I Тулуза</i> Вал Асп <i>Бристоль</i>, Глу <i>M Милуоки-1</i> Ала <i>Сидней</i> </div> </div>
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">E ↓</div> <div> Гис Вал Асп Гис <i>G Тачунэ</i> </div> </div>	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg);">E ↓</div> <div> Лей Гли Асп <i>J Кембридж</i> Асп <i>Рамбам?</i> 70 Ала </div> </div>

α	β
EF 75 Асп Гис Q Иран 76 Мет Про Асп Лиз Стэнливилль II Ала	Фен Сер <i>Christchurch</i> Сер Асп Асп <i>Korle Bu</i> Гли Асп <i>Rambam?, Shepherds Bush</i> 75 Лей 76 Ала Глу <i>Сиэтл</i>
F 80 Лей Арг <i>Ann Arbor</i> Сер Ала Лей Сер Арг <i>Etobicoke</i> 85 Асп Тир Атаго, Асп G Норфолк Лей Гис Тир M Иватэ Ала	Гис Асп J Иран Лей Асп Асп J Аккра EF 80 Асп Лиз Гифу Лей Лиз Гли Цис Дали Тре
FG 90 Гис Лиз Асп Брюссель, Тре J Раджаппен Лей Арг Лей Чесапик, Гли J Кейптаун Вал	F 85 Фен Ала Тре Лиз D Ибадан Лей Арг Борас, Про Санта-Ана Сер 90 Глу Лиз Агэноги (91 ~ 95 → O Gun Hill) Лей Про Сабин Гис Тир M Гайд-парк, Гли Сент-Этьенн Цис
G 95 Асп Про Лей G Джорджия, Сер Рампа Ала Дэнмарк Хилл Вал Асп Фен Лиз 100 Лей Лей Сер Арг Манитоба Гис Цис 105 Лей Лей Вал Тре Лей 110 Ала 111 Ала Гис Гли Дакар	FG 95 Асп Асп Ок-Ридж Лиз Глу N Балтимор Лей Гис Гли Малмё Вал Мет Кёльн (Убэ-1) Асп Асп Кемпси, Гис Якима 100 Про Глу Асп Тре Канзас Фен Арг 105 Лей Лей Про <i>Youthampton</i> Гли Асп Асп Сосидзука Вал G 110 Лей

α	β
<div>GH</div> <div> <div>Лей</div> <div>Про Арг <i>Chiapas</i></div> <div>115 Ала Асп J Тонгарики</div> <div>Глу Лиз О Индонезия</div> <div>Фен</div> </div>	<div> <div>111 Вал Фен <i>Peterborough</i></div> <div>Цис</div> <div>Вал Глу Нью-Йорк</div> <div>Лей</div> <div>115 Ала</div> <div>Гис</div> <div>Гис Арг P</div> </div>
<div> <div>Тре</div> <div>Про</div> <div>120 Ала</div> <div>Вал</div> <div>Гис</div> <div>Ала</div> <div>Сер</div> <div>125 Лей</div> <div>Асп</div> <div>Лиз</div> <div>Фен</div> <div>Лей</div> <div>Н 130 Ала</div> <div>Сер</div> <div>Вал</div> <div>Сер</div> <div>Тре</div> <div>135 Вал</div> <div>Лей Про <i>Bibba</i></div> <div>Тре</div> <div>Сер</div> <div>Лиз</div> <div>140 Тир</div> <div>Арг О <i>Koelliker</i>,</div> <div>Про <i>Singapur</i></div> </div>	<div> <div>Фен</div> <div>Гли</div> <div>GH 120 Лиз Гли Хидзияма</div> <div>Глу Гли D Пенджаб,</div> <div>Лиз О Араб</div> <div>Фен</div> </div> <div> <div>Тре</div> <div>Про Арг Хартум</div> <div>125 Про</div> <div>Вал Глу Хофу</div> <div>Гли</div> <div>Ала</div> <div>Ала Асп J Тайчжун</div> <div>130 Тир Асп Вена</div> <div>Гли Глу <i>Canden</i></div> <div>Лиз Гли K <i>Woolwich</i></div> <div>Вал</div> <div>Вал</div> <div>Н 135 Ала</div> <div>Гли Асп <i>Hope</i></div> <div>Вал</div> <div>Ала</div> <div>Асп</div> <div>140 Ала</div> <div>Лей Арг <i>Olmsted</i></div> <div>Ала</div> <div>Гис Арг Аbruццо</div> <div>Лиз</div> <div>145 Тир Гис <i>Bethesda</i>,</div> <div>Цис <i>Rainier</i></div> <div>Гис Асп Хиросима</div> </div>
<div> <div>∫</div> <div>172 <i>Constant Spring</i></div> <div>(продолжение)</div> </div>	<div> <div>∫</div> <div>154 <i>Tak</i></div> <div>(продолжение)</div> </div>

3	
1	Вал
3	Лей
5	Про
7	Глу
9	Сер
10	Ала
11	Вал
12	Тре
13	Ала
21	Асп
22	Глу
23	Вал
27	Ала
43	Глу
47	Асп
50	Тре
51	Про
52	Асп
54	Вал
69	Гли
70	Ала
71	Фен

В данной
ся ошибки
Аномали
F Алекса
F Ямайк
F Техас-2
Аномали
A₁ (B₂)
A₂ Babing
A₂ Flatbu
A₂ N.Y.U.
A₂ Sphak

(все эти
нокислотн
содержат
да α-цепи
Гис. Кром
9 Бюхм

Таблица 3.2

Сравнение расположения аминокислот γ -цепи и δ -цепи
с расположением аминокислот β -цепи

	β	γ	δ	Спи- раль		β	γ	δ	Спи- раль
1	Вал	Гли		NA1	72	Сер	Гли		E16
3	Лей	Фен		NA3	74	Гли	Ала		E18
5	Про	Глу		A2	75	Лей	Иле		E19
7	Глу	Асп		A4	76	Ала	Лиз		E20
9	Сер	Ала	Тре	A6	80	Асн	Асп		EF4
10	Ала	Тре		A7	86	Ала		С	F2
11	Вал	Иле		A8	87	Тре	Гли	Гли	F3
12	Тре		Асн	A9	104	Арг	Лиз		G6
13	Ала	Сер		A10	112	Цис	Тре		G14
21	Асп	Глу		B3	116	Гис	Иле	Арг	G18
22	Глу	Асп	Ала	B4	117	Гис		Асн	G19
23	Вал	Ала		B5	125	Про	Глу	Гли	H3
27	Ала	Тре		B9	126	Вал		Мет	H4
43	Глу	Асп		CD2	129	Ала	Сер		H7
47	Асп	Асн		CD7	130	Тир	Три		H8
50	Тре	Сер	Сер	D1	133	Вал	Мет		H11
51	Про	Ала		D2	135	Ала	Тре		H13
52	Асп	Сер		D3	139	Асн	Сер		H17
54	Вал	Иле		D5	142	Ала	Сер		H20
69	Гли	Тре		E13	143	Гис	Сер		H21
70	Ала	Сер		E14	144	Лиз	Арг		H22
71	Фен	Лей		E15					

В данной таблице показаны только фракции, в которых имеются ошибки в β -, γ -, δ -цепях.

Аномалии γ -цепи:

F Александра (γ 12 Тре \rightarrow Лиз), F Hull (γ 121 Глу \rightarrow Лиз),

F Ямайка (γ 61 Лиз \rightarrow Глу), F Техас-1 (γ 5 Глу \rightarrow Лиз),

F Техас-2 (γ 6 Глу \rightarrow Лиз), F Убе (γ 108 Асн \rightarrow Лиз)

Аномалии δ -цепи:

A₂¹ (B₂) (δ 16 Гли \rightarrow Ала),

A₂ Babinga (δ 136 Гли \rightarrow Асп)

A₂ Flatbush (δ 22 Ала \rightarrow Глу),

A₂ N.Y.U. (δ 12 Асн \rightarrow Лиз)

A₂ Sphakia (δ 2 Гис \rightarrow Арг)

(все эти цепи называются не- α -цепями) имеют 146 аминокислотных остатков, причем α -, β - и δ -цепи с N-конца содержат Вал, а γ -цепь содержит Гли. Затем, хотя с C-конца α -цепи содержится Арг, в не- α -цепи на этом месте стоит Гис. Кроме того, β -цепь и δ -цепь обладают поразительно

похожим расположением аминокислот и различия между этими двумя цепями имеют место не более чем в 10 позициях (табл. 3.1, 3.2) (Сибата, Иути, 1963).

Итак, для того чтобы определить расположение аминокислот, обычно поступают примерно так: (1) соответствующим способом подвергают препаративному разделению α -цепь и не- α -цепь, (2) очищенные препараты обрабатывают трипсином и в результате разделяют на более мелкие фрагменты (называемые триптическими пептидами) (причем разрыв происходит в тех частях молекул, где присутствует Лиз и Арг; высвобождаются их карбоксильные основания), (3) путем сочетания высоковольтного электрофореза на фильтровальной бумаге с хроматографией на фильтровальной бумаге; на поверхности фильтровальной бумаги получают пятна, которые соответствуют имеющимся пептидам (так называемые отпечатки пальцев), или же используют хроматографию на колонках со ступенчатым элюированием, (4) каждый из пептидов подвергают анализу при помощи аминокислотного анализатора и методом, позволяющим провести определение аминокислот с С-конца и N-конца и т. д., а после определения последовательности расположения аминокислот по порядку соединяют пептиды и молекула собирается в одно целое.

3.4. АНОМАЛЬНЫЕ ГЕМОГЛОБИНЫ И ГЕМОХРОМАТОЗ

Если считать справедливыми взгляды Weismann (Gardner, 1961), одного из поборников эволюционной теории, заслужившего в этом вопросе очень высокую репутацию, то зародышевая клетка поддерживает вечную жизнь во всем мире живых существ, а живые организмы, как он полагает, являются не более чем временными и заменяемыми сосудами. Между тем зародышевая клетка, перемещаясь в ходе своего непрерывного движения из одного сосуда в другой, подвергается мутантным изменениям (мутациям), и эти мутации оказывают свое влияние на сосуд, причем иногда изменяют форму и цвет сосуда. Это, говоря иначе, и есть эволюция. Далее, эта мутация, которая, как здесь говорилось, проявляется в зародышевой клетке, происходит в гене — на поверхности хромосомы ядра этой клетки.

Как известно, зародышевые клетки образуются в результате мейоза соматических клеток. При этом пары гомологичных хромосом, унаследованные от отца и матери, вза-

имно подстраиваются друг к другу и прилипают вплотную, затем каждая из них разрывается вдоль и их получается по две (дупликация). Эти удвоенные хромосомы со стороны отца и матери совершают взаимный кроссинговер, причем происходит частичный обмен веществом каждой хромосомы, после чего они взаимно отделяются друг от друга и переходят в разные клетки. При этом число хромосом сокращается наполовину.

Если взять для примера гемоглобин, то, как об этом уже говорилось в предыдущих параграфах, полипептиды, называемые α -цепью и β -цепью, представляют собой белковые тела, формирующие его молекулы, соединяя их по подобию $\alpha_2\beta_2$. Для образования α -цепи и β -цепи соответственно должны быть расставлены в своем порядке, начиная с одного конца (N-конца) и до другого (C-конца), установленные для каждой из цепей 141 или 146 аминокислот. Расстановку этих аминокислот определяют структурные гены α -цепи и β -цепи, которые находятся на поверхности хромосомы. Они являются своего рода матрицей, высеченной триплетным кодом кодона, который как бы выделяет определенную аминокислоту, собрав в один комплект три пурриновых и пиридиновых основания в качестве ДНК хромосомы. Если бы эта матрица всякий раз, когда создаются зародышевые клетки, могла бы правильно воспроизводиться и распространяться на следующие поколения, образуя из поколения в поколение подряд нормальные α -цепь и β -цепь, то сообразно с этим непрерывно фигурировали бы индивиды, у которых вырабатывался бы нормальный гемоглобин. Если же при воспроизведении по ошибке будет создана матрица с дефектом, то из-за этой ошибочной матрицы будут созданы аномальные α -цепь и β -цепь, а в связи с этим, по всей вероятности, появятся индивиды, у которых будет вырабатываться аномальный гемоглобин (обладатели аномального гемоглобина). Неправильные же матрицы могут возникать в связи с одним из двух этапов в процессе мейоза, о чем будет сообщено ниже (рис. 3.15).

а) Дупликация: когда в результате продольного разрыва одной хромосомы с отцовской или материнской стороны на две происходит воспроизведение, то в новом образовании где-то возникает ошибка в одном из трех оснований кодона. Так, например, если в одной определенной позиции, несмотря на то что предпочтительно взять аминокислоту Глу через посредство кодона, вместо Т (тимина)

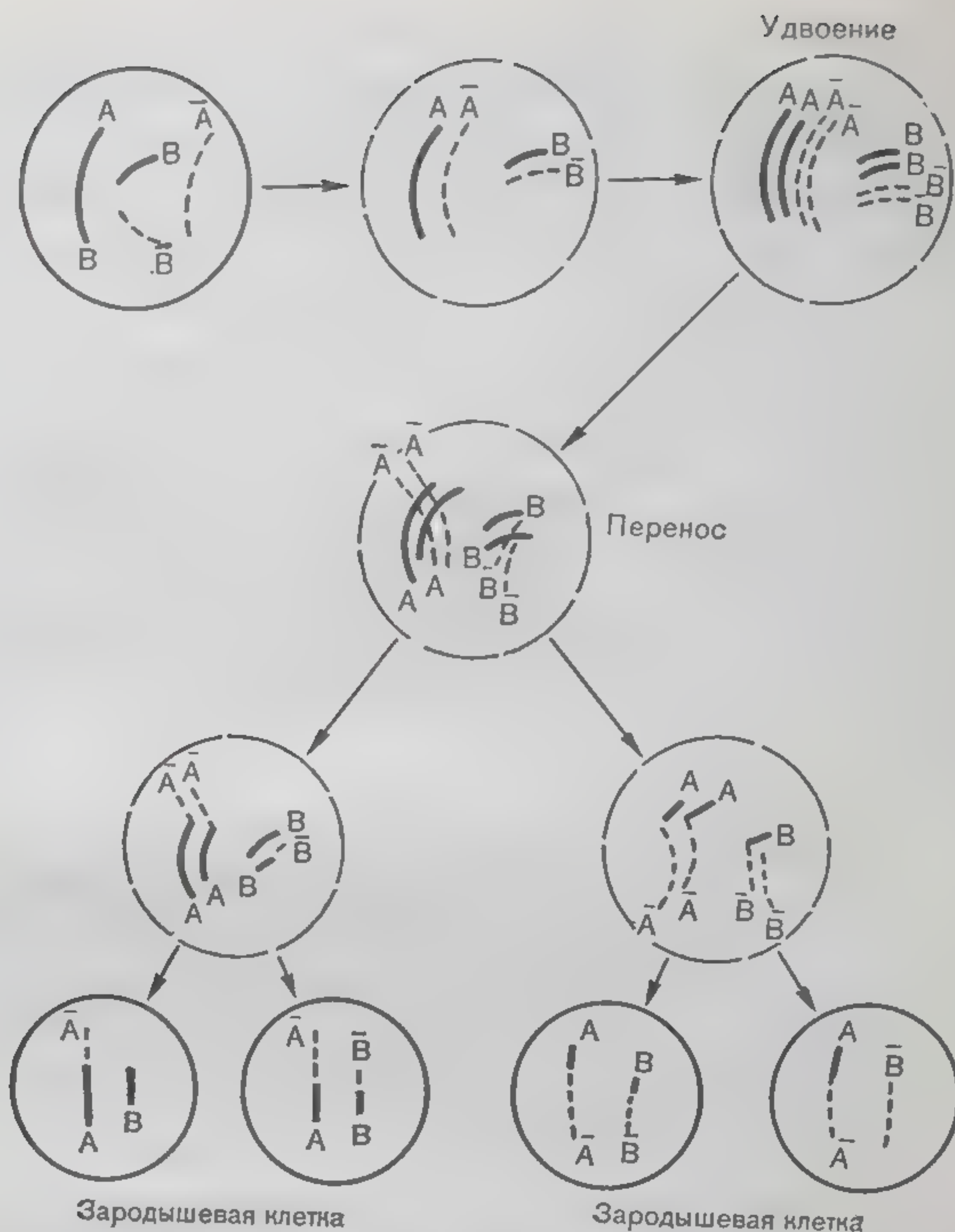


Рис. 3.15. Процесс образования зародышевых клеток в результате мейоза. А, В: хромосомы со стороны отца, \bar{A} , \bar{B} : хромосомы со стороны матери.

поставить А (аденин), получится матрица, в которой на это место будет ошибочно взят Вал (например, в β^S -цепи в составе Hb S... наблюдается β^6).

б) Кроссинговер: если в хромосомах со стороны отца и матери произойдет равный кроссинговер, то могут получиться две хромосомы одинаковой длины, в которых будут удачно соединены отцовский и материнский участки. Затем если бы отец и мать от природы были нормальными, то и высеченная у них матрица была бы нормальной; значит, и индивиды последующего поколения вырабатывали бы нормальный гемоглобин.

Между тем если произойдет неравный кроссинговер, то будут обнаружены хромосомы неодинакового размера: одна хромосома будет длиннее нормальной, а другая — короче. Короткая хромосома лишена одного участка мат-

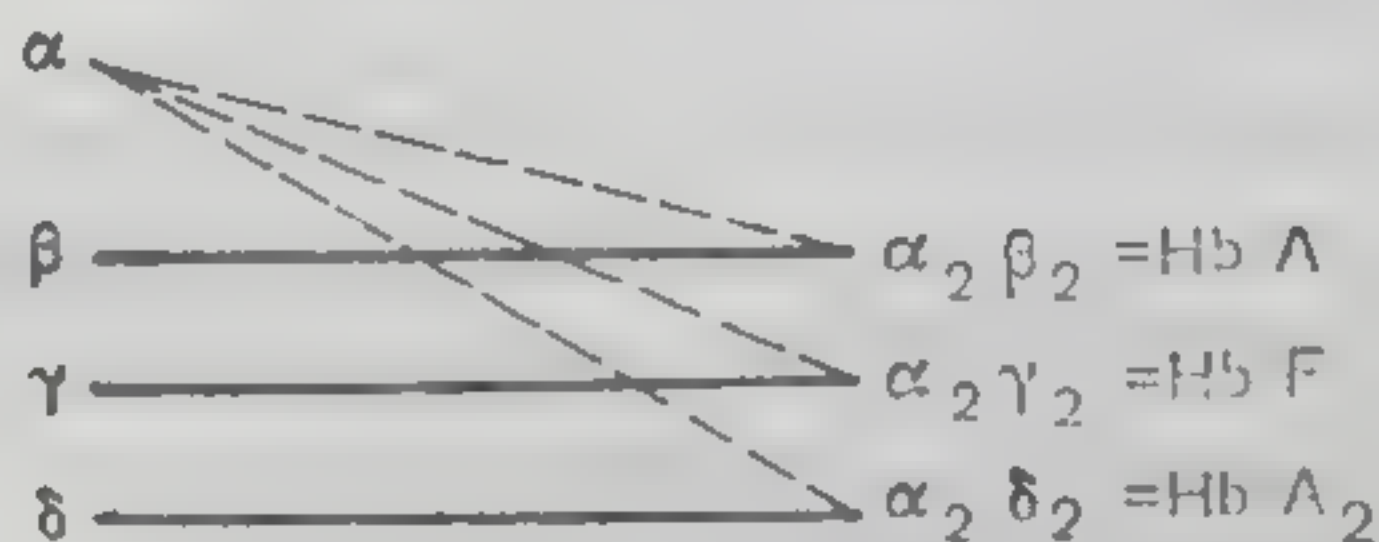
рицы, а в длинной хромосоме в матрице имеются лишние включения. В α -цепи и β -цепи, образованных согласно такой матрице, по-видимому, окажутся пропущенными определенные аминокислоты (делеция), которые в естественных условиях должны в них обязательно содержаться, и другие какие-то кислоты будут содержаться в удвоенном количестве (дупликация). Разумеется, что такие патологические α -цепи и β -цепи приводят к образованию аномальных гемоглобинов.

Когда выявляются индивиды, обладающие гемоглобином с аномальной аминокислотной структурой, это бывает связано с одной из двух перечисленных причин. В тех случаях, когда такой аномальный гемоглобин проявляет значительные отличия от нормального, у обладателя такого гемоглобина наблюдается заболевание с соответствующими характерными клиническими симптомами.

Здоровый человек, наследуя от отца и матери гены, образующие нормальные цепи α , β , γ и δ , имеет их в виде следующих пар:

$$\begin{array}{ccccccc} (\alpha / \alpha, & \beta / \beta, & \gamma / \gamma, & \delta / \delta) \\ \text{отец} & \text{мать} & \text{отец} & \text{мать} & \text{отец} & \text{мать} & \text{отец} & \text{мать} \end{array}$$

Именно поэтому у здоровых людей вырабатываются нормальные α -, β -, γ - и δ -цепи, и если их соединить в сочетании



то они в состоянии образовывать нормальный гемоглобин.

Между тем структурный ген, представляя собой первую матрицу, определяющую расположение аминокислот в α -цепи и не- α -цепи, протранскрибирует эту информацию на мРНК, т. е. на вторую матрицу и передаст эту вторую матрицу из ядра в цитоплазму, а затем, прикрепляясь к находящейся там рибосоме, присоединит (трансляция) тРНК (которые, после соединения с соответствующей отдельной аминокислотой и транспортировки, расставляются в порядке, который определен совпадающими основаниями матрицы) и сформирует полипептид (а именно α -цепь и не- α -цепь).

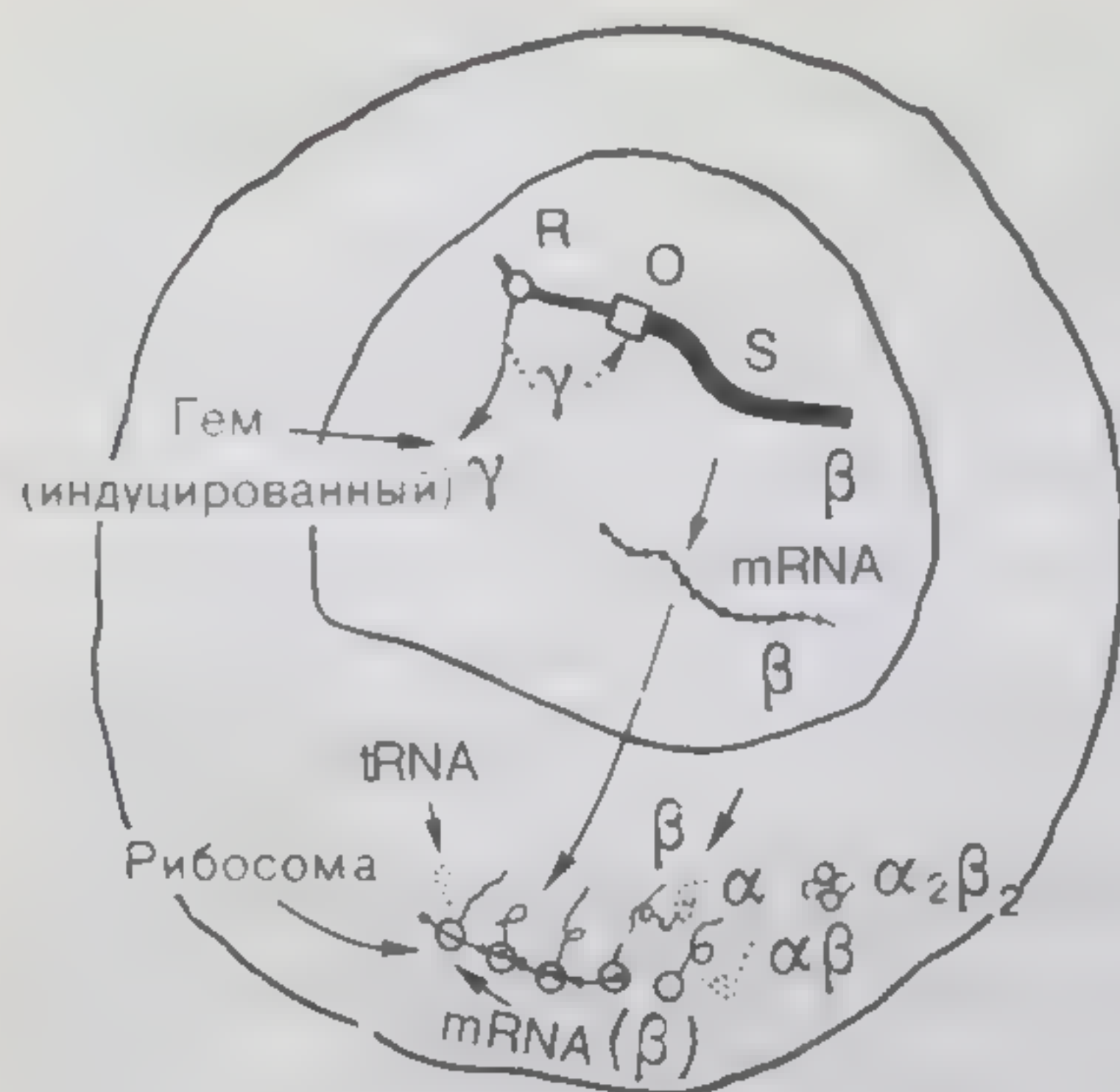


Рис. 3.16.

Формирование гемоглобина (главным образом β -цепи).

O: ген-оператор, R: ген-регулятор, r: репрессор, S: структурный ген, mRNA: мРНК, tRNA: тРНК, α -, β :- α -цепь и β -цепь.

Структурный ген своими собственными силами не в состоянии образовать мРНК. Расположенный поблизости на той же хромосоме так называемый ген-оператор должен непременно получать приказы вышестоящего гена (рис. 3.16). Этот ген-оператор, вступая в соединение с веществом, которое обычно принято называть репрессором, становится инертным; чтобы не издавать приказов, он погружен в сон. Репрессор является продуктом (РНК?) регуляторного гена, занимающего другую позицию на нити ДНК, которая в свою очередь размещается на гене-операторе. Регуляторный ген при столкновении со специфическим веществом — индуктором (по всей вероятности, гемом?) либо прекращает производство репрессора, либо сам репрессор прекращает свое тормозящее действие, будучи нейтрализованным этим веществом. Значит, поскольку репрессор, подавляющий ген-оператор, исчезает из виду, этот ген пробуждается, активизируется и отдает приказ структурному гену (первая матрица) о транскрипции мРНК (вторая матрица).

Поскольку все происходит так, как описано выше, и если структурный ген нормален, но имеются аномалии в гене-операторе, мРНК и т. д., даже если бы не происходило вырабатывания аномального гемоглобина, то формирование специфических цепей (например, β -цепи) все-таки ухудшилось бы и снизилось бы образование гемоглобина (например, $\text{Hb A} = \alpha_2\beta_2$), а это в свою очередь вызвало бы анемию и привело бы к аномальному искажению в составе гемоглобина крови. Для того чтобы гемоглобин вырабатывался с нормальной скоростью и в нормальных количествах, компоненты, формирующие молекулу гемоглобина [α -цепи и не- α -цепи (например, β -цепи)], обязательно

должны обладать сбалансированными пропорциями, ■ именно 1 : 1.

Если данное условие не будет удовлетворено, например, если ухудшится формирование β -цепи и будет оставлена ситуация, подобная $\alpha : \beta = 1 : 0,5$, то образование $\alpha_2 \beta_2 = \text{Hb A}$ снизится на 50% по сравнению с нормальным, причем излишняя α -цепь вместе с γ -цепью и δ -цепью, несмотря на образование $\alpha_2 \gamma_2 = \text{Hb F}$ и $\alpha_2 \sigma_2 = \text{Hb A}_2$ (в том числе в модификацию попадают цепи в одинарном состоянии), форсирует распад эритроцитов (неэффективный эритропоэз). Это и есть талассемия.

Хотя у здоровых людей в эмбриональном периоде ■ производится $\text{Hb F} = \alpha_2 \gamma_2$, на грани появления на свет образование γ -цепи прекращается, а для того чтобы не вырабатывался Hb F , переключатель гена-оператора перестраивается на выработку β -цепи и начинает производить $\text{Hb A} = \alpha_2 \beta_2$. В том случае, когда от родителей унаследован ген-оператор, который не подчиняется такому переключению выключателя, у такого человека, даже после того как он становится взрослым, очевидно, продолжает вырабатываться большое количество Hb F . Это называют геном фетального гемоглобина.

Во всяком случае, несмотря на наличие примеров, при которых оказывается невозможным выявить гемоглобин с содержанием аномальных цепей, все же при наличии патологических состояний, связанных с подобными искажениями в составе нормального гемоглобина, обычно это рассматривают как гемохроматоз.

В табл. 3.3 представлена классификация гемохроматозов.

Таблица 3.3

Классификация гемоглобинопатий
(Сибата, 1972)

1. Дефект гена-оператора... после рождения не происходит переключения с γ -цепи $\rightarrow \beta$ -, γ -цепь, происходит активный синтез Hb F .
.....высокое содержание Hb F (наследственная персистенция фетального гемоглобина).
2. Дефект информационной РНК (аномалия транскрипции или трансляции?)
.....хотя и не вырабатывается аномальный гемоглобин, в результате отсутствия равновесия между синтезом, α -цепи/не- α -цепи происходит снижение в выработке Hb A (гемолитическая анемия, неэффективный эритропоэз).
.....талассемия.

Из-за значительного дисбаланса в выработке α -цепи/не- α -цепи нестабильный тетрамер простой цепи вырабатывает аномальный гемоглобин (β_4) (гемолитическая анемия, эритроцитарные включения).

.....болезнь Hb H.

3. Дефект структурного гена... Практически вырабатывая аномальный гемохроматин, этот ген подавляет выработку Hb A.

А. Из-за гена слияния структурных генов β -цепи и δ -цепи вырабатывается аномальный гемохроматин (гемолитическая анемия).
.....болезнь Hb Lepore.

Б. Из-за структурных генов патологических цепей обнаруживаются симптомы аминокислотного замещения в результате точечной мутации структурных генов определенных цепей или неравноправный кроссинговер гомологичных хромосом либо его утрата, что порождает выработку аномального гемохроматина.

- (1) Заболевание, связанное с патологическим гемохроматином, при котором выявляются патологические симптомы.

а. Вырабатывается аномальный гемохроматин, который часто влечет за собой аномалию эритроцитов: либо вследствие слишком низкой степени растворимости, либо вследствие полимеризации, либо вследствие кристаллизации (гемолитическая анемия).

.....болезнь Hb S, болезнь Hb Porto Alegre, болезнь Hb C.

б. Наблюдается образование аномального гемохроматина (гемолитическая анемия телец Heinz) из-за структурного гена, вызывающего замещение аминокислот, которое приводит к нестабильности стереоструктур молекулы гемоглобина, или из-за их дефицита.

...гемолитическая анемия неустойчивого гемоглобина.

в. Образуется аномальный гемоглобин, что вызвано патологическим структурным геном, увлекающим аминокислотное замещение в гемовый карман и превращающим железо гема в метгемоглобин (неспособность к транспорту O_2). При этом железо гема окрашивается в шоколадный цвет.

....заболевание Hb M.

г. В результате влияния патологического структурного гена вырабатывается аномальный гемоглобин, что влечет за собой аминокислотное замещение или дефицит, оказывающие препятствие респираторному движению молекулы гемоглобина и вызывающие полнокровие.

.....Болезнь Hb Хиросима и др. (чрезмерное химическое сродство O_2).

Болезнь Hb Канзас (пониженное химическое сродство O_2).

- (2) Вырабатывается безвредный аномальный гемохроматин, не проявляющий патологических симптомов.

....бессимптомное заболевание, связанное с аномальным гемохроматином.

В. В результате дефекта в терме кодона структурного гена вырабатывается гемоглобин, обладающий слишком длинной аномальной цепью.

....заболевание Hb Tak, заболевание Hb Constant Spring.

3.5. ТОЧЕЧНЫЕ МУТАЦИИ

Структурный ген, т. е. код первой матрицы (генетический код) полипептидной цепи, в ходе дупликации иногда изменяется из-за внезапной ошибки. Это, по всей вероятности, случается с небольшой частотой: на одно поколение приблизительно $1,5 \times 10^{-15}$ раз (Комаи, 1960). Далее эта ошибка проявляется только в одном из участков в числе многочисленных кодов 140 участков полипептидной цепи гемоглобина; и матрицы с ошибкой кода даже в двух участках чрезвычайно редки. До сих пор еще не было обнаружено примеров с ошибками более чем в трех участках. Итак, подчеркивая факт ограничения ошибок в кодах лишь одним участком, мутацию называют точечной мутацией.

Генетический код структурного гена (1-я матрица) обобщает в единую форму одну из комбинаций триплета нуклеотидов (кодон ДНК) — А (аденин), Г (гуанин), Ц (цитозин) и Т (тимин), которая определяет установленный порядок специфического включения той или иной из аминокислот. Так, например, комбинация оснований 6-го кодона ДНК (генетического кода) с N-конца структурного гена β -цепи, представляя собой ЦТЦ, означает замещение этой позиции глутаминовой кислотой (Глу).

Генетический код этого структурного гена (1-я матрица), который в мРНК (т. е. во 2-й матрице) транскрибируется¹ как ГАГ, при непосредственном распределении аминокислот β -цепи используется в качестве 6-го кода (кодона РНК). В этот код мРНК вовлекаются транспортные РНК (тРНК), содержащие код ЦУЦ (антикодон), и так как это действительно необычно сопровождается указанным Глу, то выходит, что получается трансляция.

Детали такого механизма должны быть рассмотрены в отдельном томе данной серии, поэтому здесь будет говориться лишь кратко, и ниже публикуется табл. 3.4, в которой приведены кодоны РНК.

Что касается распределения кодонов мРНК, то непосредственно перед кодоном аминокислотного остатка № 1

¹ РНК образует код (кодон РНК) при помощи триплетных комбинаций оснований, выбранных из числа А, Г, Ц и У (не включая Т). При транскрипции берутся А как У, Т как А, Г как Ц, Ц как Г (при воспроизведении ДНК — росте структурных генов — принимать А за Т ошибочно).

Таблица 3.4

Коды РНК

Второе → первое ↓	У	Ц	А	Г	Третье ↓
У	Фен Фен Лей Лей	Сер Сер Сер Сер	Тир Тир терм терм	Цис Цис терм Трип	У Ц А Г
Ц	Лей Лей Лей Лей	Про Про Про Про	Гис Гис ГлуН ГлуН	Арг Арг Арг Арг	У Ц А Г
А	Иле Иле Иле *Мет	Тре Тре Тре Тре	АспН АспН Лиз Лиз	Сер Сер Арг Арг	У Ц А Г
Г	Вал Вал Вал *Вал	Ала Ала Ала Ала	Асп Асп Глу Глу	Гли Гли Гли Гли	У Ц А Г

Пуриновые основания—аденин (А) и гуанин (Г); пиримидиновые основания — урацил (У) и цитозин (Ц). Данная таблица считывается следующим образом: если принять за первое ↓ (У) — второе → (А) — третье ↓ (У), то получится, что УАУ кодирует аминокислоту Тир. Если же принять за первое ↓ (Ц) — второе → (Г) — третье ↓ (Ц), то кодон будет ЦГЦ, который кодирует Арг.

с N-конца, должна начинаться расстановка аминокислот, т. е. если выражаться эпистолярным стилем, то против «с почтением приветствую» в начале письма должен стоять соответствующий кодон.

В табл. 3.4 этим являются *Мет и *Вал (они не стоят перед кодоном с N-конца, когда же они помещаются внутри мРНК, то указывают на Мет и Вал). Далее, когда расстановка 140 аминокислот α- и β-цепей бывает завершена, то кодон, показывающий окончание заключительной работы, помещается непосредственно вслед за кодоном С-конца. В табл. 3.4 таким кодоном является терм.

Итак, что касается точечных мутаций, то в числе 140 распределенных аминокислот α -цепи и не- α -цепи только в одном участке произошла ошибка в аминокислотном остатке, и это произошло, как описано выше. Однако причина ошибки в этой единственной аминокислоте основана всего лишь на одном ошибочно взятом основании в соответствующем кодоне (генетический код). Если привести пример, то при воспроизведении структурного гена (ДНК) — при условии, что кодон ДНК был бы ЦТЦ (определяющий Глу) — во время транскрипции мРНК на кодоны ГАГ закономерно произойдет трансляция Глу. Между тем если по какой-либо причине — поскольку это является мутацией — будет допущена ошибка в основании кодона ДНК, например в Ц \boxed{A} Ц вместо Т будет ошибочно взят А, то в мРНК будет протранскрибировано ГУГ и, как это легко понять из табл. 3.4, окажется, что будет взят Вал. Следовательно, из-за ошибки в одном основании (в кодоне ДНК Т \rightarrow А, в кодоне РНК А \rightarrow У) вместо Вал по ошибке включается Глу. Кстати, что касается мутации кодона, если бы даже пурины (А, Г) были перепутаны внутри одной и той же группы оснований (транзиция оснований) с другими пуринами или пиримидины (Ц, Т, У) — с другими пиримидинами, то могло бы также случиться, что пурины оказались бы ошибочно взятыми в качестве пиримидинов, а пиримидины — в качестве пуринов между группами ошибочных оснований (трансверсия оснований).

Патологические полипептидные цепи аномального гемоглобина почти все без исключения являются продуктом побочной точечной мутации структурного гена. Это легко можно понять из табл. 3.4.

Если упорядочить все аминокислотные замещения (рис. 3.17), которые основываются на точечной мутации и могут произойти в α - и β -цепях, и рассмотреть все поддающиеся выявлению аномальные гемоглобины, то, как утверждают, можно привести в пример 2180 видов (Iuchi, 1968). В том числе только 651 вид представляет собой разновидность, которая влечет за собой изменения в электрическом заряде (нейтральный \rightleftharpoons кислый, нейтральный \rightleftharpoons основной, основной \rightleftharpoons кислый и прочие подстановки аминокислот); другие же виды не вызывают отклонений в электрическом заряде (например, нейтральный \rightleftharpoons нейтральный), поэтому данные виды не могут быть обнаружены при помощи электрофореза, который принято при-

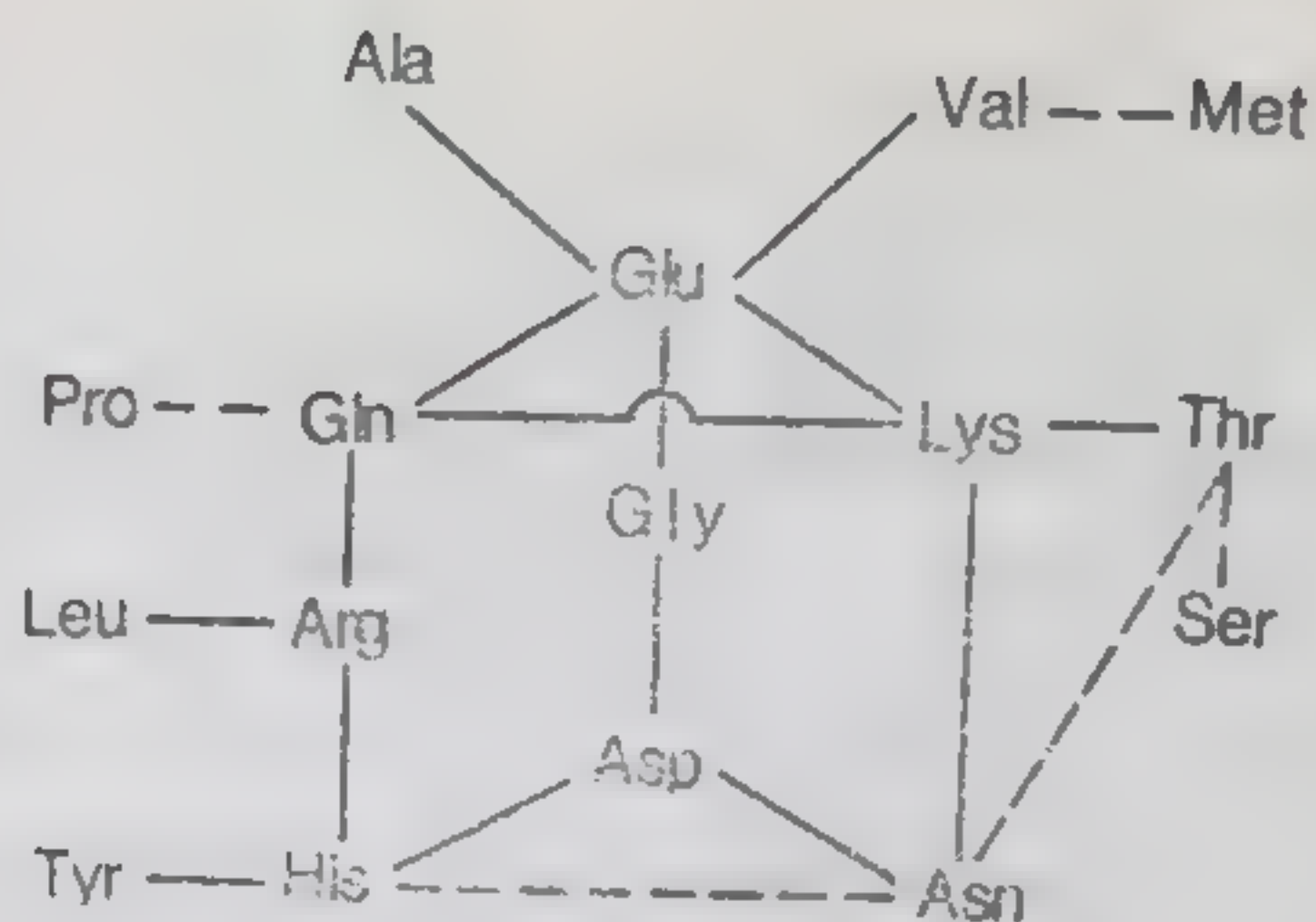


Рис. 3.17. Взаимно-возможное аминокислотное замещение (Beale, Lehmann, 1962). Например, Glu (глутаминовая кислота) может быть замещена Ala (аланином), глутамином (Gln), лизином (Lys) и глицином (Gly). При сравнении... с первичной структурой β -цепи и α -цепи, это фактически может пояснить предположение о повторно происходящих мутациях на основе транзиции оснований одной позиции основания кодона со стороны α -цепи ■ сторону β -цепи или же на основании трансверсии оснований.

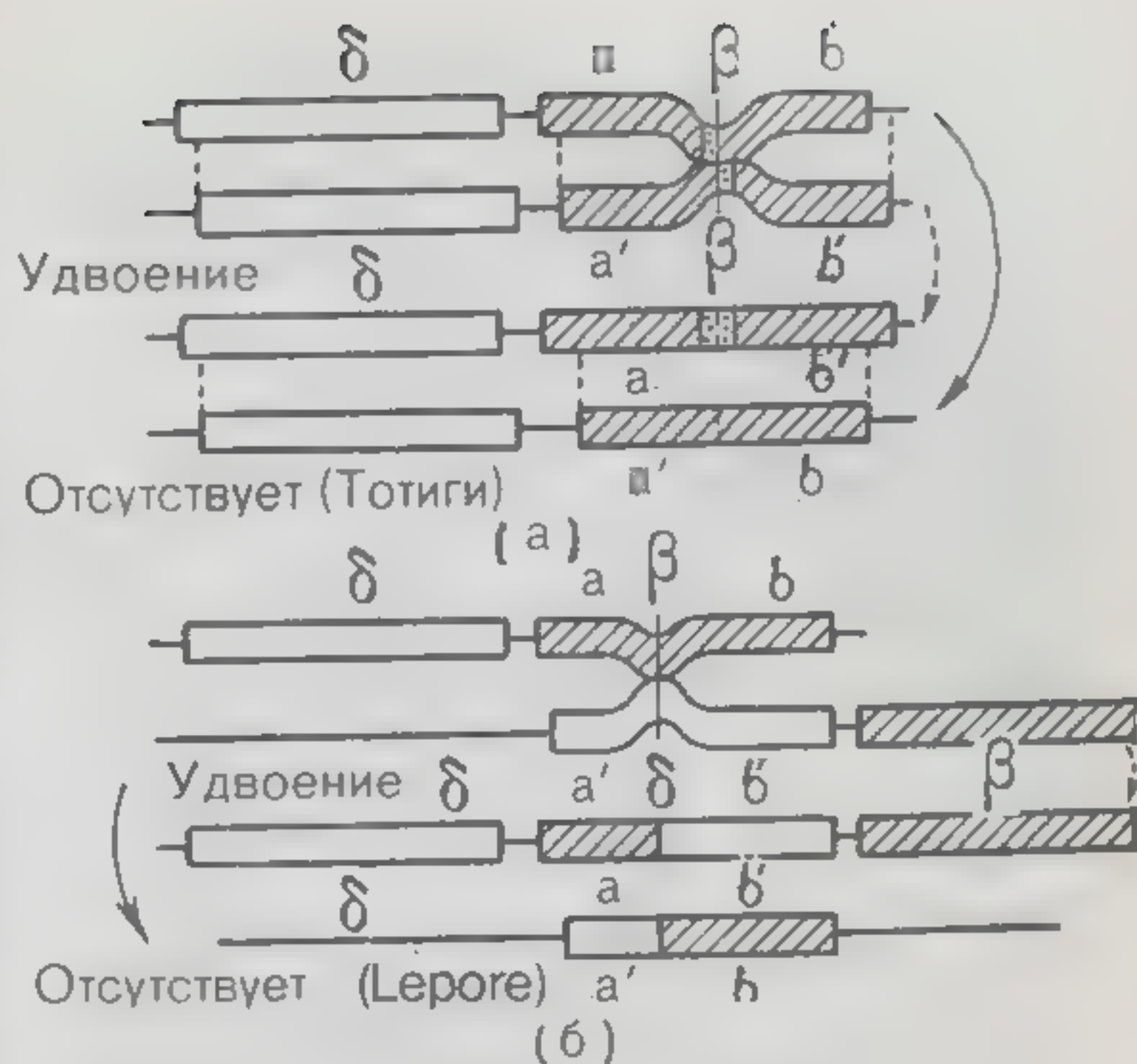
менять для выявления аномальных гемоглобинов. Среди разновидностей, которые поддаются выявлению электрофорезом, фактически обнаружено и зарегистрировано около 130 видов (Shibata и Ueda, 1970). Следовательно, в будущем еще имеются перспективы выявить при помощи электрофореза новые аномальные гемоглобины, являющиеся результатом точечных мутаций.

Здесь следует обратить внимание на то, что встречается аномальный гемоглобин, содержащий патологические цепи, которые проявляют признаки аминокислотного замещения в двух позициях. Это Hb C Harlem (Bookchin et al., 1966), в котором 6-й аминокислотный остаток с N-конца (кроме того, что точно так же, как в β -цепи Hb S подставляет Глу→Вал) еще содержит патологическую β -цепь, в которой осуществлено замещение еще и 73-го аминокислотного остатка Асп→Асн, т. е. эта цепь содержит в дублете аминокислотное замещение. Это можно объяснить двумя способами: (1) предполагая, что из-за проявления мутации в β^S -цепи (β^S Глу→Вал), входящий в состав Hb S, в течение продолжительного времени присоединялась Асп→Асн, представляющая собой вторичную мутацию 73-го номера такой же β -цепи; (2) не образуют ли β^S -цепь в составе Hb S и патологическая β^{K-B} -цепь Hb Korle-Bu (β^{73} Асп→Асн) — в результате равноправного кроссинговера и присоединения передней половинки β^S -цепи (β^6 Глу→Асп) к задней половинке β^{K-B} -цепи

Рис. 3.18.

Иллюстрируется проявление структурного гена, формирующего в результате неравного кроссинговера патологические цепи.

(а) — в β -цепи заштрихованные черным фрагменты отсутствуют при делеции хромосом. И, наоборот, в удвоенных хромосомах эти фрагменты удвоены; (б) — в хромосомных делециях структурные гены нормальных δ -цепи и β -цепи отсутствуют, в головной части содержится ген слияния δ -цепи, а в хвостовой части — ген слияния β -цепи. Удвоенные структурные гены δ и β утрачивают эту функцию и часто (?) не образуют белков. Утверждают, что Hb Miyada, вероятно, является подобной разновидностью.



($\beta 73 \text{ Asp} \rightarrow \text{Asn}$) — новой патологической $\beta^{\text{C-H}}$ -цепи одинаковой длины с нормальной β -цепью (при количестве аминокислотных остатков 146).

Hb C Georgetown (Gerald et al., 1966) ($\beta 6 \text{ Глу} \rightarrow \text{Вал} + \beta \text{ core}$ — замещение аминокислот) также содержит патологическую β -цепь, в которой содержатся два аминокислотных замещения (идентично C Harlem?).

3.6. ОТСУТСТВИЕ ОШИБОК И СЛИЯНИЕ

Патологические структурные гены, порождающие аномальные полипептидные цепи, образуются также в результате неравного кроссинговера хромосом. Две гомологичные хромосомы, приобретенные со стороны отца и со стороны матери, в условиях правильного кроссинговера обнаружат новые (частично перемешанные гены родителей) хромосомы, которые будут строго соответствовать длине прежних гомологичных хромосом. Если же кроссинговер произойдет неудачно, то появятся хромосомы, которые по сравнению с прежними окажутся длиннее или короче. Это произойдет из-за неравномерного кроссинговера и, что само собой разумеется, длинные хромосомы будут содержать лишнюю часть из-за каких-то удвоенных генных участков, а в коротких хромосомах будет пропущена некая часть генных участков.

Как это имеет место в β -цепи и δ -цепи, когда два структурных гена в результате чрезмерного сближения друг с другом оказываются врезанными в одну и ту же хромо-

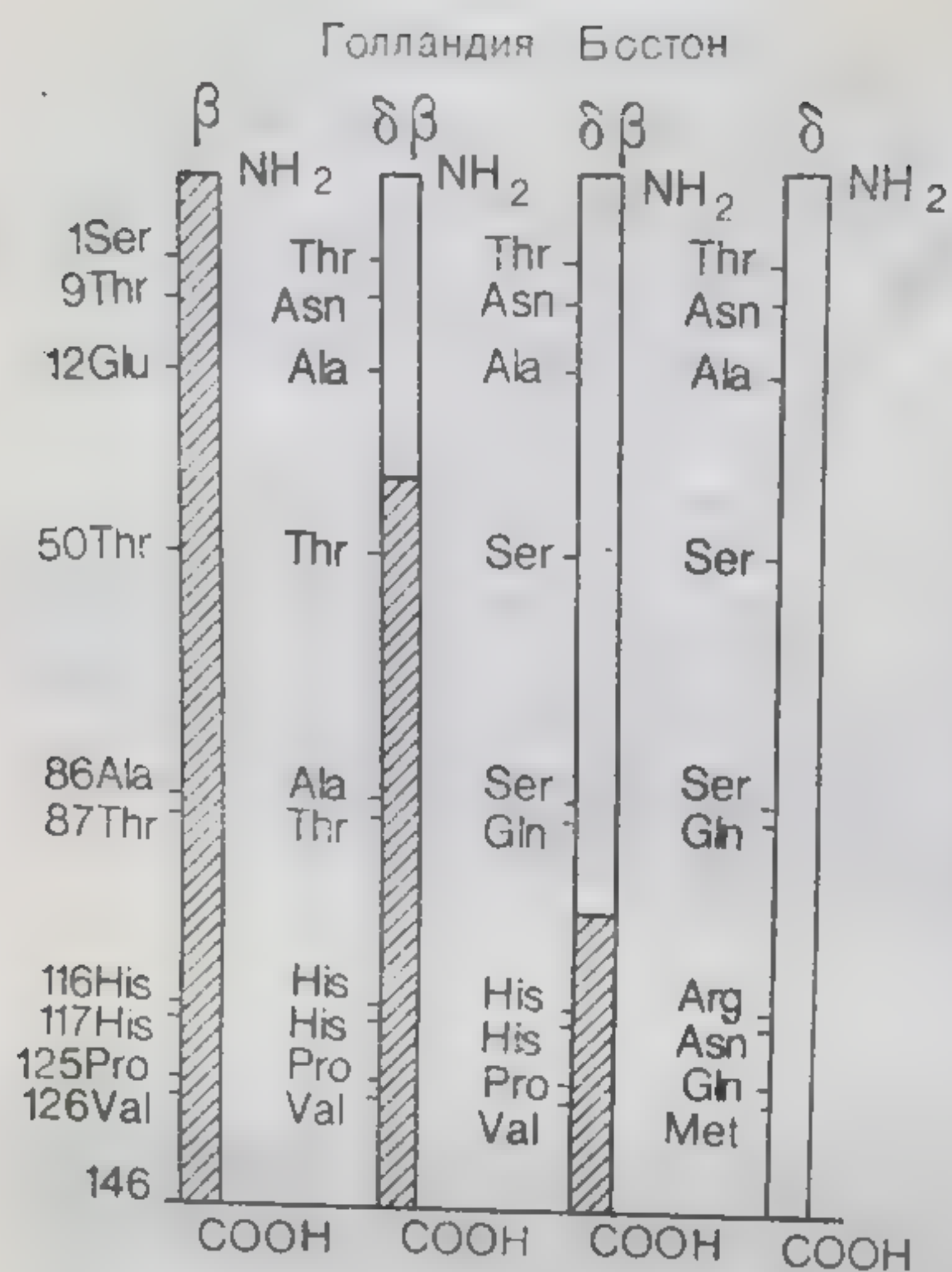


Рис. 3.19.

Сравнение $\delta\beta$ -цепи с β - и δ -цепями Hb Lepore.

Хорошо понятно, что цепь $\delta\beta$ Lepore Hollandia представляет собой $\delta(1 \sim 22-50) + \beta(22-50 \sim 146)$, а цепь $\delta\beta$ Lepore Boston — $\delta(1 \sim 87-116) + \beta(87-116 \sim 146)$. Недавно был обнаружен Hb Lepore Baltimore. Эта цепь $\delta\beta$, как утверждают, является геном слияния, образованным в результате переноса (δ 50, β 86).

сому ДНК, неравномерный кроссинговер, оттесняя этот участок к центру, распространяется на все расстояние между β -цепью, с одной стороны, и δ -цепью — с другой. В этом случае, как в этом можно убедиться, глядя на рис. 3.18, длинные хромосомы, не считая структурных генов β -цепи и δ -цепи, становятся обладательницами частичного продукта слияния (гена слияния), — в головной части — δ , в хвостовой части — β —, выступающих в качестве структурных генов β -цепи и δ -цепи. Вторая из двух полипептидных цепей, образуемая благодаря структурному гену слияния $\delta-\beta$, несмотря на наличие 146 аминокислотных остатков, вместе с тем обнаруживает такое расположение аминокислот со стороны своего N-конца, которое совпадает с δ -цепью, а со стороны C-конца — одинаковое расположение аминокислот с β -цепью. Позднее это образует не α -цепь аномального гемоглобина, именуемого Hb Lepore.

До сих пор было описано три вида аномальных гемоглобинов в качестве Hb Lepore ($\alpha_2\delta-\beta_2$), как это показано на патологических ($\delta \sim \beta$) цепях на рис. 3.19. А именно, в Lepore Hollandia (Vanabas и Muller, 1962) и в Lepore Baltimore (Ostertag et al., 1969; Huisman и Schroeder, 1971) участок δ -цепи — короткий, а в Lepore Boston (Gerald и Diamond, 1958) — длинный (Baglioni, 1962; Harris, 1970; Giblett, 1969).

Ген Hb Lepore обуславливает анемию, напоминающую β -талассемию. Если подвергнуть гемолизат электрофорезу на крахмальных блоках, Hb Lepore отделится от Hb A. Это будет более медленно движущаяся электрофоретическая фракция, напоминающая картину Hb S.

Между тем неравномерный кроссинговер — при условии, что он произойдет между теми же структурными генами β -цепи, и та хромосома, которая длиннее, будет содержать удвоенный лишний участок структурного гена β -цепи, — обеспечит отсутствие ошибок в короткой хромосоме, как раз точно в том участке структурных генов, который соответствует этому лишнему фрагменту. Это называют отсутствием ошибок (делецией).

Когда делеция происходит в небольших масштабах, как в случае с Hb Freiburg ($\beta 23 \text{ Val} \rightarrow 0$) (Jones et al., 1966), дело ограничивается пропуском всего лишь одного аминокислотного остатка. В тех же случаях, когда это происходит в больших масштабах, как например, в Hb Gun-Hill ($\beta 93 \sim 97 \rightarrow 0$) (Bradley et al., 1967) и в Hb Toshihi ($\beta 56 \sim 59 \rightarrow 0$) (Shibata et al., 1970), могут выявиться структурные гены, в которых последовательно накопилось несколько аминокислотных остатков и в которых произошла делеция. Эти аномальные гемоглобины, в которых содержатся патологические цепи, возникшие из-за подобных структурных генов, вызывают цианоз и гемолитические анемии с неустойчивым аномальным гемоглобином.

Кстати, образованная в процессе «удвоения» (b) (что изображено на рис. 3.18) цепь слияния β — δ , которая состоит из одной части со стороны N-конца β -цепи + одна часть со стороны C-конца δ -цепи (количество аминокислотных остатков, по всей вероятности, 146), очевидно, является патологической цепью Hb Miyada [$\alpha_2(\beta \sim \delta)_2$] (Ханада, 1968). Hb Miyada при электрофорезе напоминает Hb E и вместе с тем при этом не проявляется болезненных симптомов.

3.7. МУТАЦИЯ НА КОНЕЧНОЙ ТОЧКЕ ЦЕПИ СТРУКТУРНОГО ГЕНА

Как уже отмечалось, когда шла речь о кодоне РНК, после считывания (трансляции) мРНК полипептидных цепей, т. е. во время формирования цепей, аминокислоты устанавливаются в порядке последовательности с N-конца

до С-конца, сообразуясь с кодом мРНК. Непосредственно перед кодоном аминокислоты с N-конца стоит кодон «начало считывания» (N-formyl-Met), а вслед за кодоном с С-конца (а именно в α -цепи 141-й номер, в не- α -цепи 146-й номер) вставлен кодон «терм» (например, УГА), который заканчивает считывание. Вполне вероятно, что вслед за кодоном «терм» стоит кодон, показывающий расположение аминокислот других полипептидов. Или же, быть может, существует несколько кодонов (межгенная ДНК), которые заполняют промежуток вплоть до того места, где начинается кодон других специфических полипептидов.

Итак, если из-за какой-либо ошибки в кодоне «терм» случится, что он не будет вставлен точно и непосредственно вслед за 141-м номером или непосредственно вслед за 146-м номером, то, очевидно, будет сформирована слишком длинная α -цепь (содержащая свыше 141 аминокислотного остатка). Если же кодон «терм» будет ошибочно вставлен раньше того места, где должен обозначиться С-конец, то, по всей вероятности, могут появиться α - или же не α -цепи, которые будут непропорционально коротки.

Итак, аномальные гемоглобины, содержащие патологические цепи ненормальной длины, были открыты только за последние годы. Как бы то ни было, хотя в этих примерах приводятся только случаи со слишком длинными цепями, один из них — это Hb Tak (медленно движущийся) (Flatz, Kinderlerer et al., 1971), содержащий аномально длинную β -цепь (в ней после соответствующих аминокислотных остатков С-конца содержится 10 излишних аминокислот), обнаруженный в Таиланде. Второй — это Hb Constant Spring (Clegg, Weatherall et al., 1971) (как медленно движущийся, разделяется на два компонента), содержащий аномальную α -цепь, в которой вслед за аминокислотными остатками С-конца в качестве излишков прикреплен 31 аминокислотный остаток. Этот аномальный гемоглобин был выявлен в качестве микрокомпонента (1% общего гемоглобина) отдельно от Hb H в семье китайцев, проживающих на Ямайке и страдающих заболеванием Hb H (переходная α -талассемия).

При знакомстве с подобными примерами начинаешь думать, что в будущем благодаря изменению порядка считывания кода (Сибата, 1972) не исключена возможность встретить где-либо гемоглобин, содержащий изме-

ненную цепь, в которой расположение аминокислот будет полностью отличаться от нормального. А именно, если во время дупликации структурных генов будет пропущено одно основание кодона (три нуклеиновых основания) или, наоборот, произойдет ошибка, сопровождающаяся присоединением лишнего основания, то у последующих представителей поколения этой местности будет обнаружена совершенно другая расстановка кодонов по сравнению с первоначальными структурными генами. Кроме того, очевидно, будут выявлены структурные гены, формирующие полностью измененные полипептиды по сравнению с теми, которые должны были бы вырабатываться естественно. Например:

если n ($\overset{n-1}{\text{ЦАТ}}$)					
структурных генов ...	$\overset{n-2}{\text{ТАГ}}$	$\overset{n-1}{\text{ЦАТ}}$	$\overset{n}{\text{ТАТ}}$	$\overset{n+1}{\text{ТАЦ}}$	$\overset{n+2}{\text{ГАТ}}$
снять Ц, то получатся следующие					
ошибочные гены ...	$\overset{n-2}{\text{ТАГ}}$	$\overset{n-1}{\text{АТТ}}$	$\overset{n}{\text{АТТ}}$	$\overset{n+1}{\text{АЦГ}}$	$\overset{n+1}{\text{АТ}}$

Однако подобные примеры пока все еще не обнаружены.

3.8. ТАЛАССЕМИЯ (ДЕФЕКТ мРНК)

При этом заболевании на электрофореграмме выявляются структурные гены α - и не- α -цепи, которые ведут себя как нормальные пептиды. Обнаруживаемые аномалии не представляют собой изменения порядка n считывании кода, о котором говорилось в предыдущей главе, и хотя в расположении аминокислот n действительности имеется бессистемность, электроотрицательный заряд молекул в целом без отклонений.

И если бы эти гены стали формировать мРНК, то из-за аномального расположения их кода (кодона РНК) на формирование полипептидных цепей, по всей вероятности, потребовалось бы больше времени, чем на вариант с нормальным расположением кода. При этом, если за основу будут взяты такие цепи, должен обязательно вырабатываться гемоглобин, а поскольку количество вырабатываемого гемоглобина у таких больных ниже, чем у здоровых, то, видимо, это и может вызывать анемию. Как уже отмечалось выше, таких примеров пока еще не было обнаружено.

Cooley и Lee (1925), обнаружив в родословной иммигрировавших из Италии в Детройт европейцев больных с симптомами острой анемии, спленомегалии, костных деформаций (например, при рентгенограмме черепа отмечался феномен «hair-standing-on-end»), а также с монголоидными чертами лица и повышенной осмотической стойкостью эритроцитов, опубликовали сообщения об отдельных случаях заболевания. Позднее это заболевание стали именовать анемией Кули (Cooley) или средиземноморской талассемией (thalassemia, $\theta\alpha\lambda\alpha\sigma\sigma\alpha$ море \rightarrow Средиземное море). Хотя издавна и считали, что причиной этого заболевания является синтез гемоглобина с содержанием полипептидных цепей, которые, как здесь уже упоминалось, отличаются бессистемностью расположения аминокислот, но в настоящее время эта теория опровергается (Ingram, 1961).

Примечательной особенностью талассемии является то, что аномальные гемоглобины невозможно выявить, подвергая гемолизат электрофорезу и используя другие технические методы. Поэтому либо рассматриваются искажения в составе нормального гемоглобина (а именно: повышение соотносительных пропорций Hb F и Hb A₂), либо выявляются полипептидные цепи, образующие нормальный гемоглобин, т. е. тетрамеры β -цепи и γ -цепи (Hb H = β_4 и Hb Barts' = γ_4).

Отчего же наблюдается подобное явление? Об этом в печати было опубликовано много различных гипотез (Fujiki et al., 1968). (1) Вполне возможно, что вслед за переносом выделенных тРНК аминокислот, мРНК, в которых содержался код (кодон РНК), требовавший большой затраты времени на формирование полипептидов, формируют структурные гены, принимая их за основу. Почему же тогда код (кодон РНК), определяющий только один специфический вид аминокислоты (как это становится понятным, если взглянуть на табл. 3.4, в которой собраны воедино кодоны РНК), существует не в одном виде, а в нескольких? (Это называется «вырождением» кодона.) И среди этих нескольких видов кода имеются такие, которые в состоянии быстро расставить одинаковые аминокислоты, и такие, которые потребуют много хлопот и много времени. Поэтому предполагается, что производительная мощность полипептидов мРНК, в которых содержится много кодонов РНК, требующих больших затрат времени и труда, очевидно, низкая. И это, по всей

вероятности, оказывает непосредственное влияние на образование гемоглобина (теория вырождения кодонов РНК) (Fujiki et al., 1968). (2) Из-за дефектов в генах-операторах и в генах-регуляторах образование мРНК ухудшается, а следовательно, должно, видимо, ухудшиться и образование гемоглобина (гипотеза «tap») (Fujiki et al., 1968). (3) Предполагается, что из-за неравного кроссинговера в хромосомах структурные гены γ , β , δ либо содержатся в удвоенном количестве, либо, напротив, бывают пропущены, что также препятствует образованию мРНК (Nance, 1963). (4) Хотя дефекты не имеют отношения к образованию полипептидов, фактически же как следствие понижается активность процесса образования гема, что в свою очередь вызывает нарушения в формировании вторичных цепей (Varnerman, 1961). Таковы были предварительные гипотезы.

К счастью, после 1963 г. благодаря достигнутым успехам в технике непосредственного наблюдения над процессом формирования цепей с использованием меченных радиоактивными изотопами аминокислот и, наконец, благодаря самому выяснению истинного характера заболевания (поскольку после образования хрупких, легко поддающихся дегенерации мРНК необходимо формировать полипептидные цепи, приняв эти мРНК за основу, эффективность формирования этих цепей падает) определили, что дефекты заключаются в хрупкости мРНК (Fuhr et al., 1969; Harris, Kellermeyer, 1970).

Таким образом, в настоящее время талассемию стали рассматривать как наследственное заболевание гемоглобина, определение которого приводится в следующем описании (Сибата, 1972). А именно: талассемия является заболеванием, при котором в результате наследственного дефекта одна из цепей (α -цепь или не- α -цепь), которая должна вырабатывать молекулу гемоглобина, дефектна. Поскольку в обеих цепях не получается равновесия в формировании, то можно выделить следующие особенности. (1) Процесс синтеза гемоглобина (например, $Hb A = \alpha_2\beta_2$), согласованно удерживая цепи на низком уровне дефектного формирования, приводит к появлению гипохромной и микросфероцитарной анемии. (2) В составе гемоглобина крови (пропорции $Hb A$, $Hb F$, $Hb A_2$ и пр. в соотношении к гемоглобину в целом) отмечаются нарушения. (3) Что касается сформированных дефектных цепей, то имеющиеся в них излишние цепи в погоне за

цепями-соучастницами не в состоянии сформировать полноценную молекулу гемоглобина (например, $\alpha_2\beta_2$) и подвергаются разрушению. Эти продукты разрушения вызывают распад структуры эритроцитов, прежде чем они успевают после своего созревания поступить из костного мозга в периферическую кровь (неэффективный эритропоэз). (4) Когда в конце концов такие эритроциты поступят из костного мозга в периферическую кровь, то из-за ненормальной формы (мишеневидная, каплевидная) они за очень короткий период (в пределах одного дня) оказываются захваченными ретикулярной соединительной тканью (например, селезенкой) и подвергаются распаду (по этой причине селезенка нередко оказывается гипертрофированной). Заболевание принимает хроническое течение и приводит к гемолитической анемии. (5) В действительности, несмотря на то что клетки на мазках после окрашивания периферической крови морфологически напоминают железодефицитную анемию, дефицита железа не наблюдается, чаще имеется гиперферремия; наследственная гемолитическая анемия сопровождается увеличением селезенки (эритроцианоз, эритроциты, содержащие синие гранулы, увеличение числа ретикулоцитов, повышение содержания билирубина в сыворотке крови, положительная реакция на уробилиноген в моче). Хотя картина и напоминает наследственную сфероцитарную анемию, на препаратах после окрашивания крови сфероцитарные эритроциты почти не встречаются; кроме того, понижается осмотическая стойкость эритроцитов, что свидетельствует против такого диагноза.

При талассемии подавляется формирование цепей, однако так как вид этого заболевания может соответствовать имеющимся α -, β -, γ - и δ -цепям, то его стали соотносить с этим именовать α -талассемией, β -талассемией, γ -талассемией и δ -талассемией (Ingram, Stretton, 1959).

а. α -Талассемия

В результате подавления формирования α -цепи ухудшается синтез гемоглобина, а излишние свободные не- α -цепи (в особенности β -цепи), подвергаясь разрушению, образуют внутри эритроцитов нерастворимые осадки и включения. Эти осадки определяются как синие гранулы, рассеянные в эритроцитах, после добавления к капле крови бриллиантового голубого, являющегося суправитальным

красителем.
мочь соеди
может случ
мер ($\beta_4 = \text{Hb}$)
фореза в в
щегося а
обнаружива
У страдающ
робной жизн
 $\alpha_2\gamma_2$, плохо
появление
Hb Bart's=
мер γ -цепи
Когда после
ваются с си
пей сокраща
Huntsman, 1
Что касает
моглобинов,
носителей г
мальные ге
нентов β -це
глобина (из
показателем
пи ($\alpha_2^X\beta_2^A$)
предположе
жить тот ф
структурно
мы, структу
двух, прете
тогда как в
 α -цепи.
Таким об
мальный ге
кой α -цепи,
прекращат
Между т
наружили д
в составе
50% анома
аномалий о
шую увере
соем струк
значит, что

красителем. Так как не- β -цепь, несмотря на необходимость соединения с α -цепью, не может связаться с ней, то может случиться, что она, полимеризуясь, образует тетрамер ($\beta_4 = \text{Hb H}$), который можно выявить методом электрофореза в виде компонента, имеющего вид быстро движущегося аномального гемоглобина. α -талассемию, которая обнаруживается $\text{Hb H} = \beta_4$, именуют заболеванием Hb H . У страдающих заболеванием Hb H в период их внутриутробной жизни, когда должен был вырабатываться $\text{Hb F} = \alpha_2\gamma_2$, плохо формировалась α -цепь, что влекло за собой появление излишних γ -цепей и, соответственно, синтеза $\text{Hb Bart's} = \gamma_4$, компонента, представляющего собой тетрамер γ -цепи и имеющего вид аномального гемоглобина. Когда после рождения сформировавшиеся γ -цепи связываются с синтезированными β -цепями, количество γ_4 -цепей сокращается, а β_4 -цепи заново проявляются (Lehmann, Huntsman, 1966; Wasi et al., 1969).

Что касается обнаруженных до сих пор аномальных гемоглобинов, то если исследовать состав гемоглобина крови носителей гетерозиготности, в которой имеются эти аномальные гемоглобины, то содержание аномальных компонентов β -цепи ($\alpha_2^A\beta_2^X$) составит около 50% общего гемоглобина (излишек $\text{Hb A} = \alpha_2^A\beta_2^A$). Это является высоким показателем, в то время как аномальные компоненты α -цепи ($\alpha_2^X\beta_2^A$) ограничатся приблизительно 25%. Имеется предположение, что причиной такого явления может служить тот факт, что, несмотря на наличие одного локуса структурного гена β -цепи на поверхности одной хромосомы, структурный ген α -цепи имеет их два, причем один из двух, претерпев мутацию, формирует аномальную α -цепь, тогда как второй продолжает вырабатывание нормальной α -цепи.

Таким образом, имеется подозрение, не может ли аномальный гемоглобин, синтезированный с участием такой α -цепи, составляющей около 25% его состава, быстро прекращать свое существование.

Между тем совсем недавно Brimhall с соавт. (1970) обнаружили двух братьев, у которых около 50% гемоглобина в составе гемолизата приходилось на Hb A , оставшиеся 50% аномального гемоглобина приходились на два вида аномалий α -цепи. В результате этот факт вселил еще большую уверенность в наличии двух локусов в одной хромосоме структурного гена α -цепи. Между тем это совсем не значит, что у всех людей в одной хромосоме по два локуса

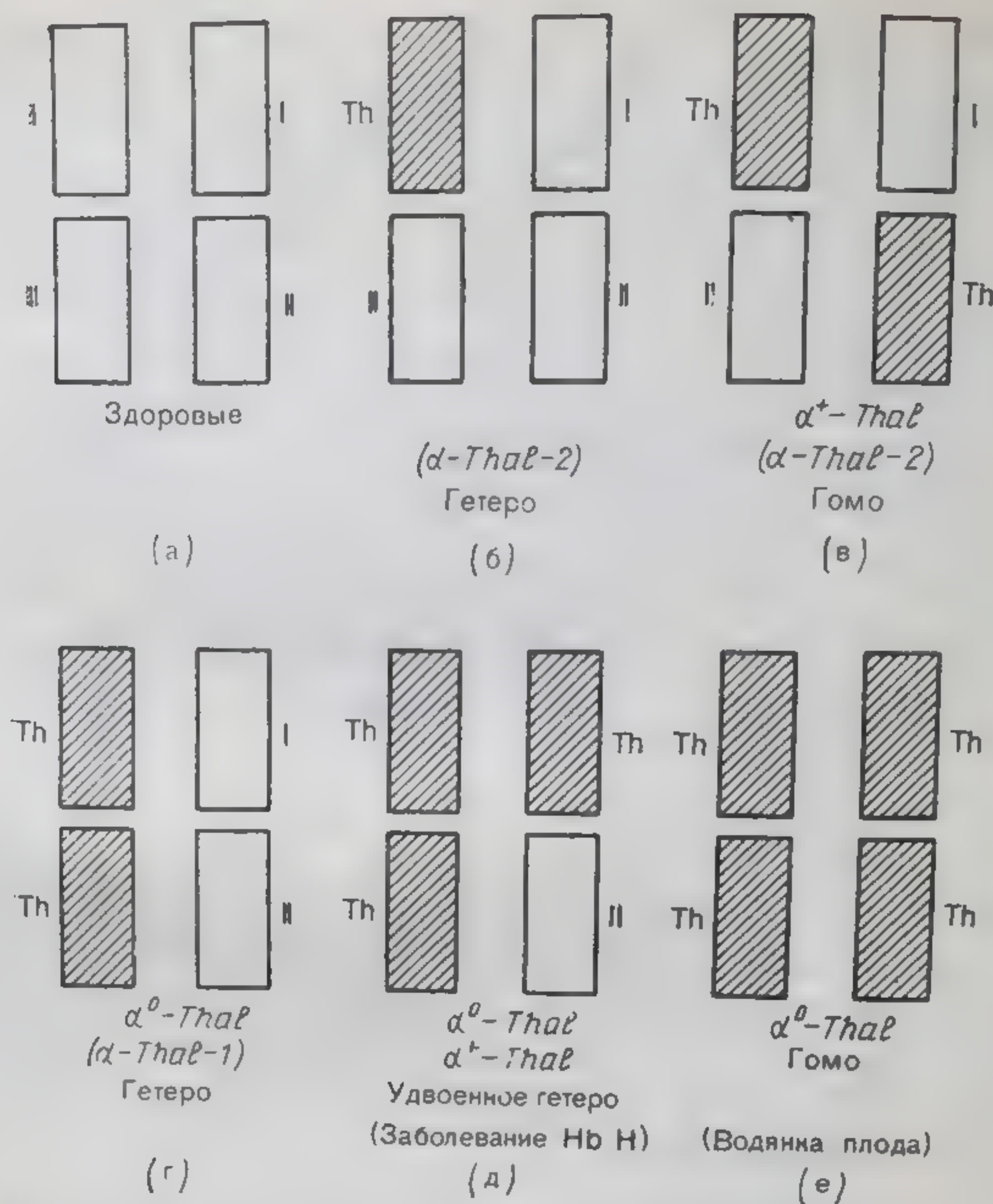


Рис. 3.20. Разные формы α -талассемии.

I и II показывают два локуса структурных генов α -цепи. Th иллюстрирует воздействие генов талассемии на эти локусы. Наклонные штрихи показывают торможение.

структурного гена α -цепи: имеются ученые, поддерживающие теорию о наличии людей и с единственным локусом (Abramson, 1970).

Как бы то ни было, если допустить, что существуют два локуса структурного гена α -цепи и, как это иллюстрируется на рис. 3.20, подавлен только один из двух локусов, что проявляется α -талассемией, то можно также строить предположение о возможности выявления α -талассемии при наличии обоих подавленных локусов (Wasi, 1970; Lehmann, 1970). При этом в первом случае формирование α -цепи подавлено лишь частично и образование гемоглобина заметно не нарушено. Тогда как во втором случае формирование α -цепи полностью подавлено и, как можно предугадывать, синтез гемоглобина нарушен в значительной мере. Предположим, что первый случай мы назовем

α^+ (Fessas, 1968) геном талассемии (или геном α -талассемия-2; Wasi, 1970), а второй — α^0 геном талассемии (Fessas, 1968) или геном α -талассемия-1 (Wasi, 1970). Таким образом, ген, вызывающий талассемию, существует отдельно от структурного гена α -цепи, и предполагается, что он находится в склеенном с ним состоянии.

Если предположить, что локусы структурного гена α -цепи, как это показано на рис. 3.20, находятся на поверхности хромосомы и вплотную прижаты друг к другу, причем один из них (I), расположенный впереди, подавлялся бы в результате талассемии, а расположенный сзади (II) в соответствии с нормой перестал бы существовать, то в степени подавления формирования α -цепи должен был бы возникнуть целый ряд расхождений. А именно: обычно, когда аномальным становится ген, расположенный спереди, то ген, находящийся непосредственно за ним, легко может пострадать даже будучи нормальным и утратить свои функции (Lehmann, 1970). Если учесть это, то можно предположить, что α -талассемия типа A содержит мутанты гораздо более широкого диапазона, чем это указано на рис. 3.20.

Талассемию у носителей гетерозиготности с нормальными генами называют гетерозиготной талассемией; талассемию у носителей гомозиготности — гомозиготной талассемией; талассемию у носителей гетерозиготности с удвоенными генами талассемии неправильного типа A — промежуточной талассемией. В соответствии с этими наименованиями α -талассемию можно классифицировать следующим образом.

1) Гетерозиготная α -талассемия (α^0 —Th/ α^A)

Больной новорожденный не отличается от здорового слишком острой анемией, однако его эритроциты имеют склонность к гипохромии и микросфероцитозу (мишеневидных эритроцитов нет, но бросается в глаза разница в величине эритроцитов); осмотическая стойкость снижена. Содержание Hb F нормальное. В крови новорожденного содержится Hb Bart's = γ_4 (6% общего гемоглобина).

У взрослых отмечается лишь слабая степень анемии, в составе их гемоглобина нет особых аномалий. Печень и селезенка не бывают увеличены. Поэтому у взрослых нередко бывает очень трудно диагностировать гетерозиготную α -талассемию (Wasi, 1969).

2) Гетерозиготная α -талассемия ($\alpha^0 - Th/\alpha^0 - Th$)

Так как при этом заболевании отсутствует способность формировать α -цепь, в эмбриональном периоде α -цепь совсем отсутствует и только из γ -цепи вырабатывается тетрамер γ_4 (=Hb Bart's). Поскольку последний обладает аномально большим сродством с O_2 , то это влечет за собой недостаточность O_2 в тканях, возникает «водянка плода» (с увеличением селезенки и желтухой) и плод гибнет. При этом нередко отмечается интоксикация беременности и мать служит источником научных данных о крови при α^0 -талассемии (Wasi, 1969).

3) Гетерозиготная α -талассемия ($\alpha^+ - Th/\alpha^A$)

Диагностирование α -талассемии у взрослых чрезвычайно затруднено, ибо симптомы и данные об отклонениях весьма стерты.

У новорожденных, подвергая гемоллизат электрофорезу на целлюлозно-ацетатной пленке, можно выявить всего лишь каких-нибудь 1,5% Hb Bart's = γ_4 (Wasi, 1969).

4) Гомозиготная α -талассемия ($\alpha^+ - Th/\alpha^+ - Th$)

Хотя имеется надежда и по этому заболеванию получить научные данные об особенностях картины крови, а также сведения, раскрывающие симптомы заболевания, как это наблюдалось с α -талассемией гетерозигот, однако пока еще не обнаружено примеров этого заболевания (Wasi, 1969).

5) Промежуточная α -талассемия ($\alpha^0 - Th/\alpha^+ - Th$) и заболевание Hb H

Сразу после рождения отмечаются симптомы легкой формы анемии. Морфологические изменения эритроцитов хотя и напоминают гетерозиготную α -талассемию, тем не менее в них встречаются грануловидные включения (бриллиантовый голубой, суправитальная окраска). В пуговинной крови Hb Bart's = γ_4 занимает 25% общего гемоглобина (кроме того, содержится Hb A и Hb F). Помимо этого, одновременно выявляются микроколичества β_4 = Hb H.

По мере роста ребенка Hb Bart's исчезает из крови, но вместо него начинает увеличиваться содержание Hb H, и

в возрасте приблизительно 1 года проявляется картина типичного заболевания Hb H. То есть появляются симптомы острой гемолитической анемии: слабость, утомляемость, легкая форма желтухи (случается, что при введении медикаментов она усугубляется), увеличение селезенки, увеличение печени, костные изменения на рентгенограмме, монголоидное лицо. Эритроциты содержат типичные грануловидные включения (окрашиваются суправитально бриллиантовым голубым — это дегенерировавший Hb H). Hb H составляет 8% общего гемоглобина, тогда как содержание Hb F и Hb A₂ остается нормальным. Кроме того, микрокомпоненты гемоглобина, которые по сравнению с Hb A₂ являются «медленно движущимися» и обладают неясной естественной формой, зачастую можно выявить электрофорезом с применением целлюлозно-ацетатной пленки. Эти микрокомпоненты гемоглобина, по всей вероятности, являются Hb Constant Spring. Что касается больных, имеющих Hb Constant Spring, то в процессе экспериментов по изучению формирования полипептидных цепей в ретикулярные эритроциты пациентов добавляли ³H-лейцин и ³H-аргинин и оставляли их на ночь. В результате подтвердилось, что формирование α-цепей действительно часто подавляется (Clegg et al., 1971).

При хранении гемолизата пациентов, страдающих заболеванием Hb H (Rigas et al., 1956), в холодильнике в гемолизате появляются нерастворимые осадки темно-багрового цвета; это и есть Hb H = β₄. Так как Hb H представляет собой один из видов нестабильного гемоглобина, обладающих аномально большим химическим сродством с O₂, он превращается в метгемоглобин и вскоре, утратив гем, осаждается в виде нерастворимых частиц.

б. β-талассемия

В результате недостаточного формирования β-цепи, т. е. из-за малого количества вырабатываемой β-цепи по сравнению с соответствующим количеством вырабатываемой α-цепи, в попытке компенсировать недостаточность β-цепи увеличивается связывание γ-цепи и δ-цепи, которые аналогично β-цепи относятся к не-α-цепи. Следовательно, α-цепь, которая становится излишней по отношению к β-цепи, образуя Hb F = α₂γ₂ и Hb A₂ = α₂γ₂, вызывает искажение в составе гемоглобина [повышается соотношение Hb F или (и) Hb A₂].

Такая реакция увеличения производства и связывания γ -цепи и β -цепи не только не является равномерной во всех эритроцитах, но в некоторых клетках совсем не обнаруживается. Поэтому, если подвергнуть типичный образец периферической крови, принадлежащий больному β -талассемией, элюированию кислотой Betke-Kleihauer (Kleihauer et al., 1957), которая специфическим образом окрашивает содержащийся в эритроцитах Hb F, а также подвергнуть флюоресценции антитела Hb (Hosoi, 1968), то обнаружится неравномерное распределение Hb F между отдельными эритроцитами. Это и является одной из специфических особенностей, наблюдаемых при β -талассемии (Lehmann, Huntsman, 1966; Wasi et al., 1969).

Точка зрения гематологии на β -талассемию (гипохромная микросфероцитарная анемия, ослабление осмотической стойкости эритроцитов и т. д.) совпадает с определением, которое дано о талассемии выше. Фактически именно β -талассемия предоставила нам те научно-исследовательские материалы, которые сделали доступным уровень наших познаний о талассемии.

1) Гетерозиготная β -талассемия (β^0 — Th/ β^A)

Ген β^0 —Th полностью подавляет формирование β -цепи. При этом анализ крови говорит о близком сходстве с железодефицитной анемией, но вместе с тем применение препаратов железа не дает эффекта. Обычно отмечается незначительное снижение количества эритроцитов в сравнении с падением концентрации Hb. Поэтому нередко количество эритроцитов сохраняется в пределах нормы и даже, наоборот, встречаются примеры, когда оно превышает нормальный максимум. Хотя клинические симптомы гетерозиготной β -талассемии частично проявляются, однако все они не выходят за рамки анемии (легкая степень увеличения билирубина в сыворотке крови, уробилиногенурия, увеличение ретикулярных эритроцитов и мшневидных эритроцитов), а именно бледность лица, общая слабость и т. д.

Что касается состава гемоглобина, то обнаруживается увеличение Hb A₂ (достигает 4,5 ~ 7%), нередко увеличивается и Hb F (достигает 2 ~ 7%). Поэтому это заболевание и называют A₂-талассемией (Lehmann, Huntsman, 1966; Wasi et al., 1969).

2) Гомозиготная β -талассемия ($\beta^0Th/\beta^0 - Th$)

У гомозигот по гену β^0 -талассемии формирование β -цепи подавляется полностью. Анемия Кули (Cooley) и является таким заболеванием. Анемия проявляется большей частью уже через полгода после рождения. Это точно совпадает с периодом, когда переключатель формирования γ -цепи эмбрионального периода окончательно перестраивается в сторону формирования β -цепи. Неожиданно родители замечают перемену в ребенке: он внезапно отказывается от молока, у него начинается понос, повышается температура. Когда же эти явления стихают, родители обращают внимание на крайнюю бледность ребенка (анемия). Анемия прогрессирует. Живот становится большим, пальпируются увеличенные селезенка и печень. Лицо приобретает монголоидные черты (из-за чрезмерного разрастания костного мозга скулы выдаются вперед, основание переносицы вдавлено, нос приплюснут), при рентгенологическом исследовании черепа наблюдается феномен «игл ежа» («Hair-standing-on-end»). В попытке восполнить эритроциты, утраченные в результате неэффективного эритропоэза и увеличения гемолиза, ткани черепа, чрезмерно разрастаясь и гипертрофируясь, порождают такое изменение медуллярной пластинки. Иногда наблюдается изъязвление голени.

Из-за острой гипохромной микросфероцитарной анемии (RBC $1 \sim 3 \times 10^6/\text{мм}^3$, Hb 5 г/дл) в периферической крови содержится много тонких дискообразных и мишеневидных эритроцитов. Помимо того, вследствие разных размеров эритроцитов обнаруживаются признаки их аномальной формы (симптом неэффективного эритропоэза), причем в этом числе обнаруживаются и эритроциты, содержащие ядро. Также встречается много эритроцитов (ретикулоцитов), окрашенных в синий цвет, и базофильных гранул. Осмотическая стойкость эритроцитов понижается.

Билирубин сыворотки крови, достигая от 1 ~ 3 мг, свидетельствует о латентной форме желтухи. Иногда в результате задержки обезвреживания билирубина, происходящей из-за избыточного образования в организме билирубина, заболевание сопровождается желчнокаменной болезнью. Содержание железа в сыворотке крови не уменьшается, скорее возрастает.

Что касается состава гемоглобина, то Hb F значительно увеличен (достигает 20 ~ 90%). Однако наблюдается лишь

незначительное ($2 \sim 13,3\%$) увеличение Hb A₂. Иногда оно совсем отсутствует (Lehmann, Huntsman, 1966; Wasi et al., 1969).

3) β -талассемия *minima* ($\beta^+ - Th/\beta^A$)

У гетерозигот по гену β^+ -талассемии формирование β -цепи подавляется только частично. Поскольку обнаруживается всего лишь небольшое число слабо выраженных патологических признаков β -талассемии, то такие больные обычно ускользают от внимания врача. Содержание Hb A₂ и Hb F большей частью находится в пределах нормы и только в результате окрашивания мазков периферической крови по методу Betke—Kleihauer обнаруживаются отдельные эритроциты, содержащие в большом количестве Hb F, не наблюдаемые у здоровых людей. На этом основании можно сделать вывод, что β^+ -талассемия является гетерозиготной (Lehmann, Huntsman, 1966; Wasi et al., 1969).

4) Промежуточная β -талассемия ($\beta^0 - Th/\beta^+ - Th$)

Хотя по клиническим симптомам и с точки зрения гематологии это заболевание рассматривается как равное гомозиготной β -талассемии, и хотя данные генеалогического исследования должны твердо подтвердить наличие у одного из родителей гена $\beta^0 - 9h$ (гетерозиготной β -талассемии) (тогда как другой родитель почти здоров и с точки зрения гематологии обнаруживает лишь легкую степень β -талассемии), все же в конечном счете нельзя исключить вероятность обладания им геном $\beta^+ - Th$ (β -талассемия *minima*) (Lehmann, Huntsman, 1966; Wasi et al., 1969).

в. γ -талассемия

Об этом заболевании сообщалось следующее: у братьев в возрасте 13 и 14 лет началась анемия, которую вначале приняли за β -талассемию гомозиготную. В их крови гемоглобин Hb F = $\alpha_2\gamma_2$ отсутствовал, а содержание Hb A₂ было занижено (Motulsky, 1964).

г. δ -талассемия

Подавление формирования δ -цепи, связанное с низким выработыванием Hb A₂ = $\alpha_2\delta_2$ от природы, как будто и не влечет за собой анемию и с точки зрения гематологии

не является аномальным. Однако что касается состава гемоглобина, то у гетерозигот, обладателей гена δ -Th, содержание Hb A₂ составляет лишь половину соответствующего Hb A₂ у здоровых людей, а у гомозигот — носителей гена (δ -Th/ δ -Th) Hb A₂ совсем отсутствует (Motulsky, 1964; Thompson et al., 1965; Ohta et al., 1971).

д. $\delta\beta$ -талассемия

В результате мутации одного общего гена (гена-терминатора) в β -цепи и δ -цепи одновременно подавляется формирование β - и δ -цепей, что увеличивает образование γ -цепей и влечет за собой увеличение содержания Hb F в составе гемоглобина. Поэтому это заболевание и называют F-талассемией. В состав гемоглобина гетерозигот — носителей гена $\delta\beta$ — Th ($\delta\beta$ — Th/ $\delta\beta$) — входит 8~18% Hb F, остальное падает на Hb A и Hb A₂ (которые отнюдь не завышены). Содержание Hb F в каждом эритроците неравномерно (этот признак совпадает с признаком β -талассемии).

При $\delta\beta$ -талассемии обычно обнаруживается легкая форма патологических проявлений, однако эритроциты при этом заболевании рассматриваются как морфологически аномальные, имеющие специфику талассемии (Motulsky, 1964).

В Швейцарии и Японии были обнаружены семьи, у некоторых членов которых форма эритроцитов была нормальной и не отмечалось анемии, но наблюдалось бессимптомное увеличение Hb F (Hb F в пределах уровня 8%; гетерозиготы). Некоторые называют это «швейцарским вариантом гена персистенции фетального гемоглобина» (Marti, 1963), но в действительности, следует думать, это $\delta\beta$ -талассемия.

В семье, члены которой имели эту форму талассемии (Shibata et al., 1966), обнаруженной в Убэ, был 25-летний юноша, у которого с детства наблюдалась довольно жесткая гематурия и впоследствии было выявлено ущемление селезенки. Содержание Hb F у этого больного составляло 24,3% общего гемоглобина, а остальное приходилось на Hb A и Hb A₂ (которые не увеличивались). Распределение Hb F между эритроцитами было неравномерным. Вполне вероятно, что этот пациент является удвоенным гетерозиготом $\delta\beta$ -Th и β^+ -Th.

3.9. АНОМАЛИИ ГЕНА-ПЕРЕКЛЮЧАТЕЛЯ (НАСЛЕДСТВЕННАЯ ПЕРСИСТЕНЦИЯ ФЕТАЛЬНОГО ГЕМОГЛОБИНА)

У человека едва ли не на самом раннем этапе эмбрионального периода (до 3 мес) образуются полипептидные цепи α , γ , ε (Capp et al., 1967; Huehns, Shooter, 1965) и ζ (Capp et al., 1970) и пр. Причем в крови, помимо Hb Bart's = γ_4 и Hb F = $\alpha_2\gamma_2$, содержится I группа гемоглобинов, которую называют «эмбриональным гемоглобином» (рис. 3.21), включающая в себя разные виды гемоглобина, а именно: Hb Gower-1 = ε_4 (Huehns et al., 1964; Huehns, Shooter, 1965), Hb Gower-2 = $\alpha_2\varepsilon_2$ (Huehns et al., 1964; Huehns, Shooter, 1965), а также Hb Portland-1 = $\zeta_2\gamma_2$ (Capp et al., 1970).

Когда эмбриону исполняется более 3 мес, эмбриональный гемоглобин исчезает из виду, а Hb F = $\alpha_2\gamma_2$ вытесняет все другие виды. Т. е. процесс формирования α -цепи и γ -цепи приобретает оптимальное состояние. Поэтому несмотря на то что главным компонентом гемоглобина продолжает оставаться Hb F, в связи с началом формирования еще и β -цепи появляется определенное количество Hb A = $\alpha_2\beta_2$. И хотя такое состояние продолжается вплоть до самого рождения ребенка, где-то на самой грани его появления на свет начинает подавляться формирование γ -цепи и одновременно с переключением на формирование β -цепи включается переключатель гена-оператора, чтобы формировать также δ -цепь. Остается неясным, что побуждает включать этот переключатель гена-оператора (если рассматривать его как ген, то, очевидно, можно было бы назвать его геном-переключателем) и что форсирует синтез мРНК в β - и δ -цепях (так называемый ген-терминатор), после того как структурный ген γ -цепи внезапно подавляет скорость вырабатывания своих мРНК. Таким образом к годовалому возрасту ребенка, поскольку уже формируется и γ -цепь, основным компонентом гемоглобина становится Hb A = $\alpha_2\beta_2$ (96 ~ 98%), а Hb F и Hb A₂ составляют микрокомпоненты (каждый около 2%). Такой путь развития иллюстрируется на рис. 3.22 (Lehmann, Huntsman, 1966).

Структурный ген полипептидных цепей, образующий гемоглобин, как предполагают (Giblett, 1969), является продуктом постепенной эволюции, миновавшим все общие с миоглобином этапы, начиная, как это показано на

Рис. 3.21. Схема
глоби
A = (A
ФНД:
GSSG с
H: β_2 , E

рис. 3.23, от п
денции нового
генетика родосл
наблюдаются
нальный гемогл
взрослого челове
Между тем
Schroeder, 1971)
 γ -цепь HbF на н
ли анализу каж
что существуют
которой остатком

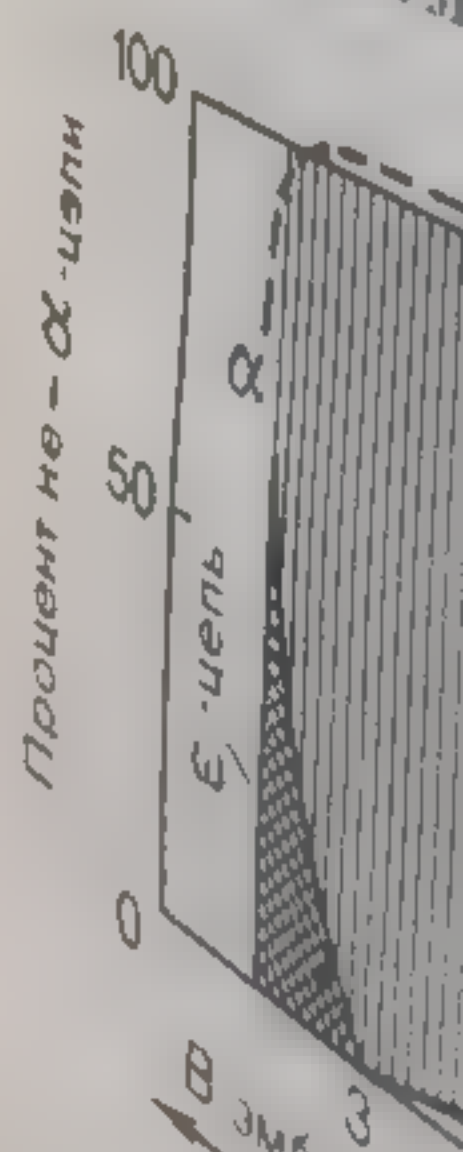


Рис. 3.22. Формирован
риод внутр
риод
известно
е-цепь
русь
во

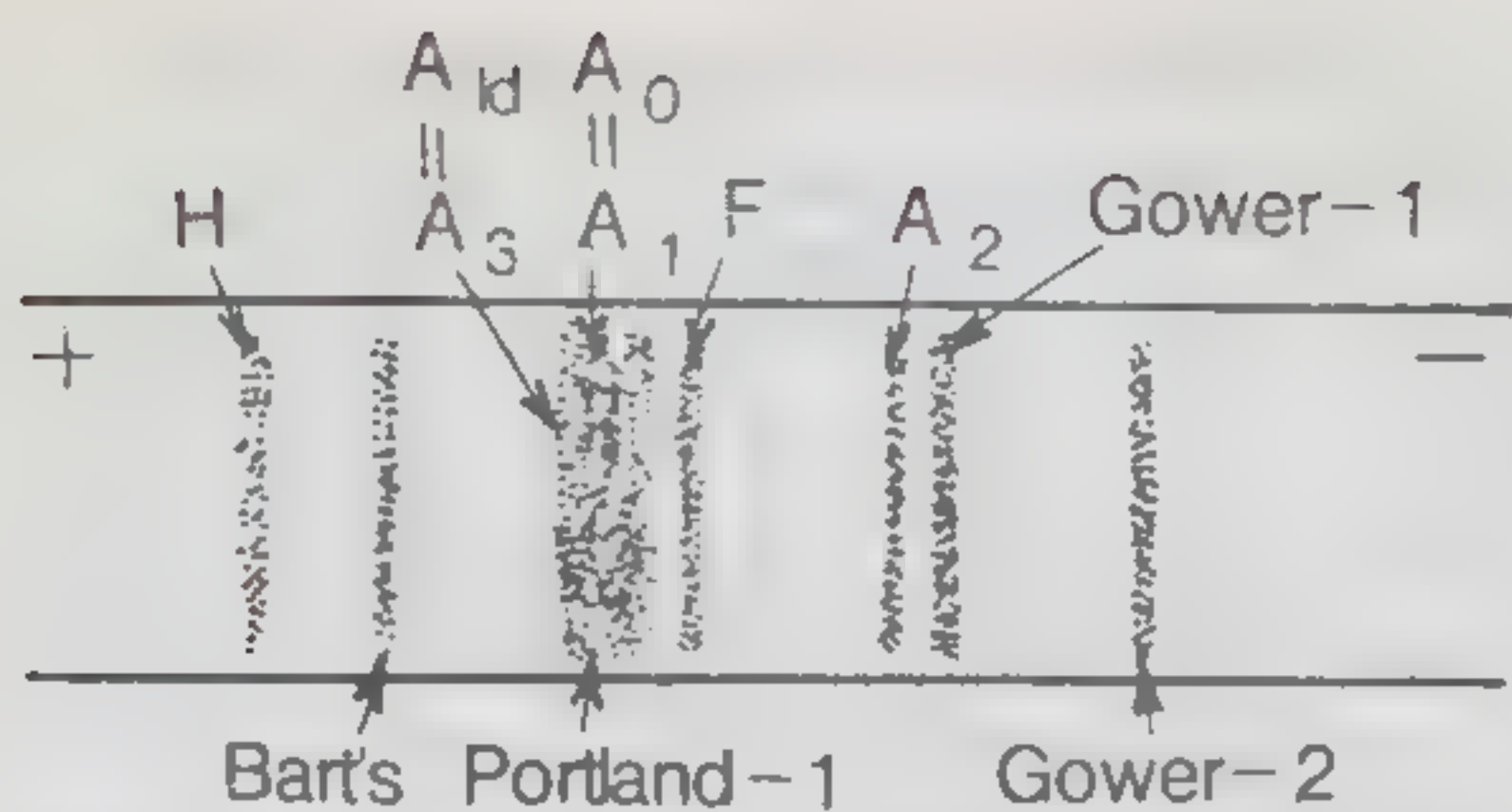


Рис. 3.21. Схема электрофореза (при pH 8,6) эмбрионального гемоглобина здорового плода.

$A_1 = (A_0$: хроматография): $\alpha_2\beta_2$, A_2 : $\alpha_2\delta_2$, $A_3 = A_1d$ (хроматография): $\alpha_2\beta_2$ Glut₁ (β -цепь и N-конца ? \square соединение глутатиона GSSG с Cys (93)), Bart's: γ_4 , F: α_1, γ_2 , Gower-1 ϵ_4 , Gower-2: $\alpha_2\epsilon_2$, H: β_4 , Portland-1: $\zeta_2\gamma_2$.

рис. 3.23, от первоначальных полипептидов. При зарождении нового индивидуума вновь и вновь повторяется генетика родословной, а значит, как уже отмечалось выше, наблюдаются изменения в составе гемоглобина: эмбриональный гемоглобин \rightarrow фетальный гемоглобин \rightarrow гемоглобин взрослого человека.

Между тем недавно Schroeder с соавт. (Huisman, Schroeder, 1971), разделив при помощи цианогенбромида γ -цепь HbF на несколько пептидных фрагментов, подвергли анализу каждую отдельную аминокислоту и выяснили, что существуют два вида γ -цепей. А именно, $A\gamma$ -цепь, в которой остатком номер 136 (γ 136) γ -цепи является Ала,

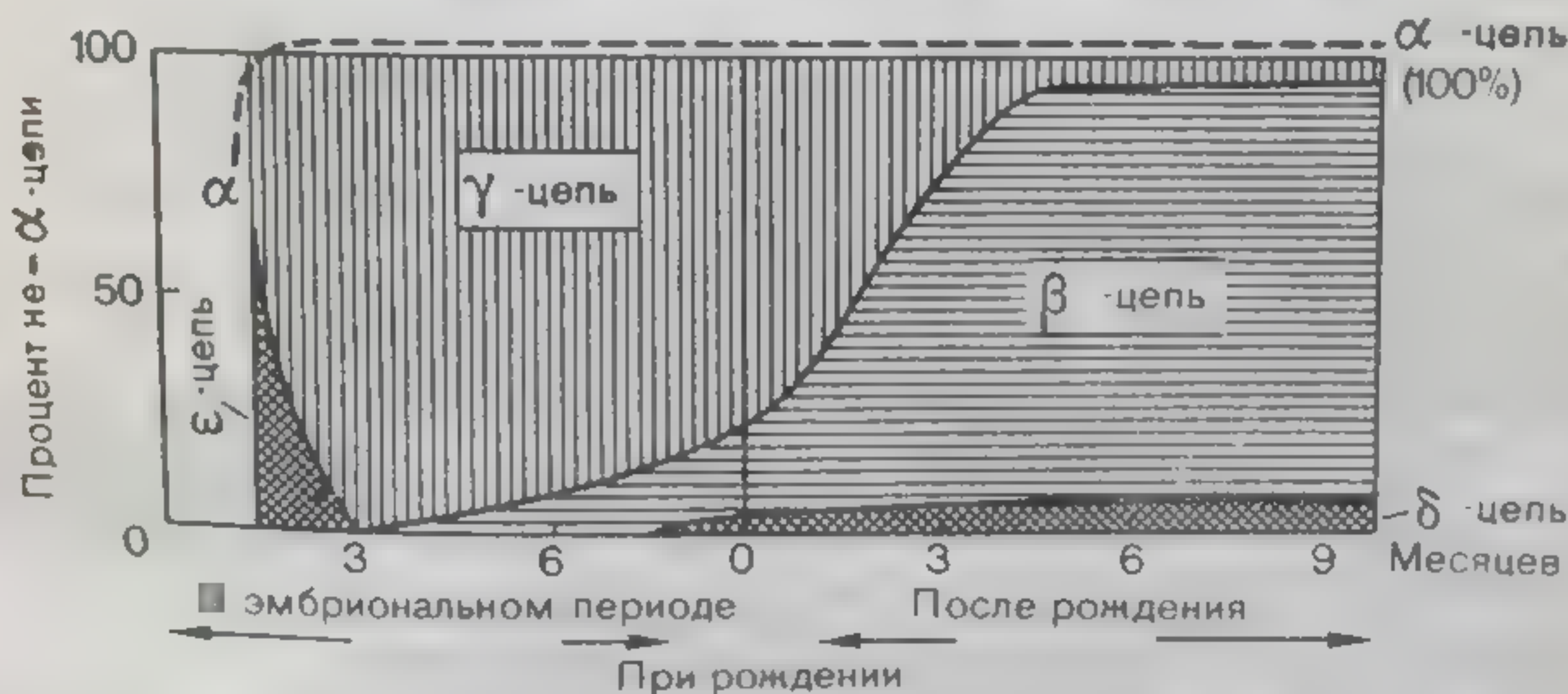


Рис. 3.22. Формирование полипептидных цепей гемоглобина в период внутриутробного развития и в постнатальном периоде.

Известно, что \blacksquare период внутриутробного развития образуются ϵ -цепь, а затем γ -цепь, \blacksquare после рождения интенсивно формируется β -цепь. В действительности, δ -цепь формируется после рождения.

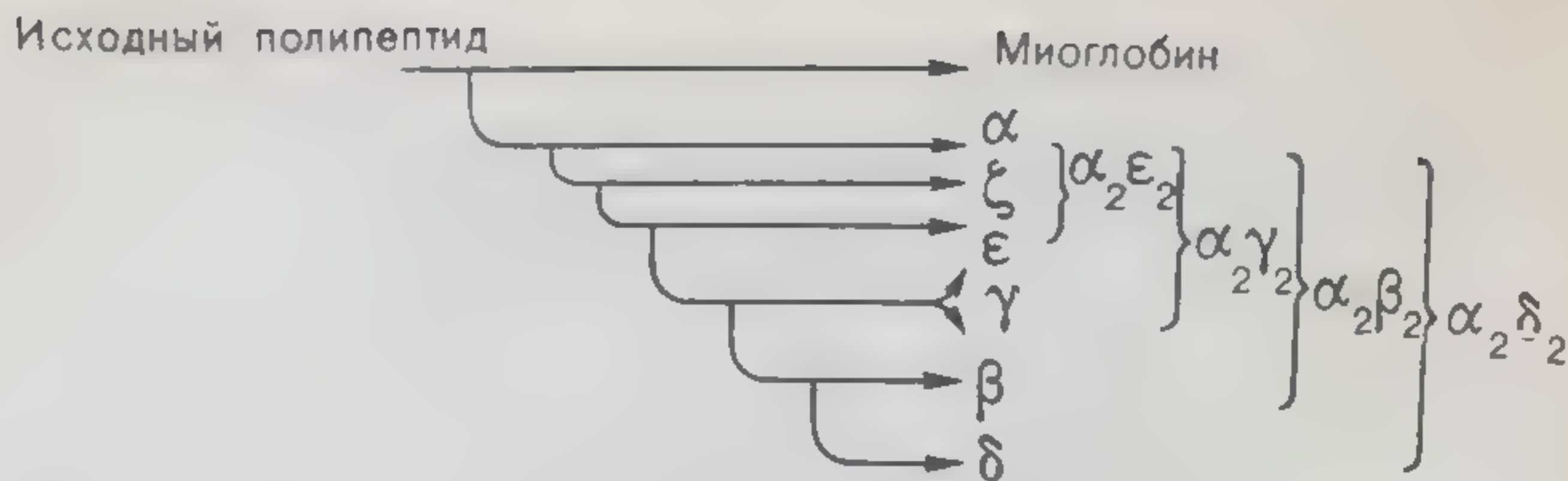


Рис. 3.23. Изменения гена полипептидной цепи гемоглобина (предполагаемая схема).

и $G\gamma$ -цепь, в которой соответствующим остатком является Гли (причем обе цепи ни при помощи электрофореза, ни при помощи хроматографии не могут быть разделены до степени получения аналогичной картины расположения). В Hb F пуповинной крови здорового человека отношение $G\gamma : A\gamma$ приблизительно представляет $(0,3 \sim 0,4) : 1$ (Rosa et al., 1971). Однако у здорового взрослого человека это соотношение представляет $(0,5 \sim 0,65) : 1$ (Rosa et al., 1971). (При анемии, вызывающей увеличение Hb F, это соотношение $G\gamma : A\gamma$ будет аналогичным, как у взрослого человека, так и в пуповинной крови. Не происходит ли это потому, что эритропоэз возвращается вспять к эмбриональному периоду?) Как бы то ни было, существование $G\gamma$ и $A\gamma$ означает, что локусов структурного гена γ -цепи, по аналогии с вариантом α -цепи, существует два (Huisman, Schroeder, 1971).

Здесь мы вновь вернемся к разговору о гене-переключателе и о гене-терминаторе. Если в таких генах возникнут дефекты, то, поскольку окажется невозможным заставить структурные гены β -цепи и δ -цепи производить соответствующие мРНК, ибо после рождения ген-оператор γ -цепи будет подавлен, то в течение всей жизни формирование Hb F будет продолжаться на том же уровне, как в эмбриональном периоде, а Hb $A_1 = \alpha_2\beta_2$ и Hb $A_2 = \alpha_2\delta_2$, вероятно, совсем не будут вырабатываться. В жизни такие дефекты гена существуют. Это называют «наследственной персистенцией фетального гемоглобина», или «высоким содержанием гена F» (высокое содержание гена Hb F) (Jacob, Raper, 1958; Went, McIver, 1958).

Гемоглобин крови носителя гомозиготности, страдающего наследственной персистенцией фетального гемоглобина, на 100% занят Hb F, а Hb A_1 и Hb A_2 в нем выявить невозможно. В гемоглобине же крови носителя гетерозигот-

ности дефект гена-оператора, вытекающий из высокого содержания Hb F (это происходит из-за воздействия структурного гена [cis], находящегося на поверхности одной и той же хромосомы), не оказывает влияния на гены (trans), расположенные на поверхности другой гомологичной хромосомы, поэтому Hb F занимает 10~35% общего гемоглобина, а остальное падает на Hb A₁ и Hb A₂.

Здесь следует обратить особое внимание на тот факт, что и гомозиготы, и гетерозиготы здоровы, форма их эритроцитов тоже нормальная, Hb F равномерно распределен между всеми эритроцитами, и расхождение в содержании Hb F среди эритроцитов четко не выявлено (Conley et al., 1963). Короче говоря, высокое содержание гена Hb F является бессимптомной гемоглобинопатией.

Ген наследственной персистенции фетального гемоглобина можно подразделить по меньшей мере на два типа (Motulsky, 1964). Один из них (1), наблюдаемый среди африканцев (с частотой 1 на 1000 человек), — это африканский тип, при котором у носителей гетерозиготности активность синтеза Hb F отличается высоким коэффициентом (занимая 20~30% общего гемоглобина), и второй (2) — это греческий тип, при котором уровень синтеза Hb F ниже, чем при африканском типе (Hb F занимает всего лишь 11~18% общего гемоглобина). Этот тип встречается среди греков с частотой 0,25%. В Японии тоже были выявлены индивиды — обладатели греческого типа (Ohta et al., 1971; Масуда, Фудзика, 1963).

3.10. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ СИНТЕЗ ГЕМОГЛОБИНА

С точки зрения гемоглобинопатий дефект гена гемоглобина можно подразделить на три следующие группы: (1) аномальный структурный ген полипептидной цепи (α - и не- α -), (2) структурный ген талассемии, тормозящий формирование полипептидных цепей, и (3) ген Lepore (ген слияния), изменяющий структуру полипептидных цепей и одновременно тормозящий формирование цепей. Во (2) группу включается еще и аномальный ген персистенции фетального гемоглобина в составе гена-переключателя, который продолжая и после рождения ребенка вырабатывать Hb F эмбрионального периода, не вырабатывает гемоглобина взрослого человека (Hb A₁, Hb A₂).

Случается, что один и тот же индивидуум одновременно наследует более двух разных групп таких аномальных генов. Подобное явление может иметь место, поскольку локусы соответствующих генов отличаются друг от друга. Кроме того, у одного и того же индивидуума могут обнаруживаться (например, при заболевании Hb S/Hb C) два вида аномальных генов, относящихся к одной и той же группе. Это происходит потому, что, наследуя от отца и от матери по одному аномальному гену, принадлежащему к одной и той же группе, но к разным видам, индивид может обладать ими, сочетая их парами. В таком случае аномальные гены, взаимодействуя друг с другом, по всей вероятности, вызывают другие эффекты, чем в том случае, когда они наследуются в отдельности. Ниже будет сделана попытка описать это.

а. Взаимодействие двух видов аномальных структурных генов, занимающих одинаковые локусы (образующих аллельные гены) — заболевания Hb S/Hb C и Hb S/Hb D

Hb S (β 6 Глу→Вал), Hb C (β 6 Глу→Лиз), а также Hb D (β 121 Глу→Гли) так или иначе являются аномальными гемоглобинами аномальной β -цепи.

Состав гемоглобина с признаком Hb S (заболевание Hb S/Hb A) включает Hb S (22~45%), а весь остаток почти полностью падает на Hb A₁, причем и Hb F, и Hb A₂ находятся в пределах нормы. Короче говоря, при признаке Hb S формирование Hb S меньше, чем формирование Hb A.

1) Заболевание Hb S/Hb C

При заболевании Hb S/Hb C (Сибата, 1968) Hb C содержится 50~67%, Hb F — 0,7~8%, весь остаток падает на Hb S. В данном случае выработка Hb C немного превосходит Hb S. Таким образом, Hb S занимает 50% общего гемоглобина, а в периферической крови выявляется серповидноклеточный эритроцитоз, что служит клиническим симптомом серповидноклеточной анемии. Наличие Hb C отличает это заболевание от обычной серповидноклеточной анемии (заболевание Hb S/Hb S), причем в окрашенном мазке периферической крови обнаруживают-

ся многочисленные мишеневидные эритроциты. Зачастую беременность влечет за собой обострение заболевания (Sackner et al., 1959).

2) Заболевание Hb S/Hb D

При заболевании Hb S/Hb D (Сибата, 1968) в мазке периферической крови также находят серповидноклеточные эритроциты. Однако большинство из них имеет форму лодочки. Несмотря на то что Hb D на электрофореze обнаруживает одинаковую с Hb S степень подвижности, это заболевание отличается от Hb S/Hb S. Наряду с этим при агаровом электрофореze (pH 6,5) Hb D вместе с Hb A продвигаются в сторону анода быстрее, чем Hb S. Кроме того, при тесте на растворимость деоксигемоглобина (диализ при помощи раствора фосфорной кислоты) Hb D, в отличие от Hb S, не осаждаются и задерживаются в растворенном состоянии. При заболевании Hb S/Hb D количество вырабатываемых Hb S и Hb D, как предполагается, почти равномерно (50%/50%); клинические же симптомы легче, чем при заболевании Hb S/Hb S (серповидноклеточная анемия).

Образование тактоидов Hb S (что составляет первопричину серповидноклеточности) то ускоряется, то тормозится. И это зависит от разновидностей гемоглобина, одновременно сосуществующих с Hb S (Bookchin et al., 1970). Так, например, Hb F по сравнению с Hb A обладает большей тормозящей силой по отношению к формированию тактоидов Hb S (Bookchin, Nagel, 1971).

В соответствии с описанным выше структурные гены двух видов аномальных цепей, формирующих аллельные гены, взаимосвязаны также тем, что оба находятся на поверхности хромосомы trans, причем каждый из них автономно выполняет присущую ему работу и, очевидно, не обнаруживает особых признаков взаимодействия.

б. Взаимодействие патологического структурного гена и гена талассемии

1) Hb S/ β -талассемия

При Hb S/ β -талассемии (Сибата, 1968) формирование Hb S подавляет образование Hb A, причем состав гемоглобина включает Hb S (65~83%), Hb F (0~17%),

остальное приходится на долю Hb A₁. Содержание Hb A₂ не увеличено (Koneman et al., 1963). В данном случае структурный ген β^S -цепи в составе Hb S и ген β -Th β -талассемии не находятся на поверхности одной и той же хромосомы, а взаимно сосуществуют раздельно на поверхности других гомологичных хромосом. мРНК, выработанные структурным геном β^A нормальной β -цепи, расположенной на поверхности хромосомы, на которой находится ген β — Th, в результате дефекта плохо формируют β^A -цепь, а из-за этого β^S -цепь, которая является продуктом структурного гена β^S , находящегося на поверхности другой гомологичной хромосомы, коррелятивно увеличивается, причем содержание Hb S = $\alpha_2^A \beta_2^A$ начинает превосходить содержание Hb A = $\alpha_2^A \beta_2^A$.

Это патологическое состояние (Hb S/ β — Th) по тяжести симптомов поддается сравнению с серповидноклеточной анемией. Однако оно отличается от Hb S/Hb S значительной гипертрофией селезенки (серповидноклеточная анемия не вызывает увеличения селезенки). Хотя ■ окрашенном мазке периферической крови и обнаруживаются серповидноклеточные эритроциты, одновременно наблюдаются патологические отклонения эритроцитов, наводящие на мысль о наличии β -талассемии: мишеневидные эритроциты, эллипсоидные эритроциты, эритроциты неодинакового размера и т. д. Hb S, так же как и при заболевании Hb S/Hb S, содержится в любых эритроцитах почти равномерно (Yakulis, Heller, 1964); тогда как Hb F обнаруживает неравномерное распределение среди эритроцитов (это является особенностью β -талассемии).

2) Hb S/ген наследственной персистенции фетального гемоглобина

При Hb S/гене наследственной персистенции фетального гемоглобина (Jacob, Raper, 1958; Went, McIver, 1958), когда в состав гемоглобина входят: Hb S (60 ~ 70%), Hb F (30 ~ 35%), Hb A (10%), Hb A₂ (ниже нормы), содержание Hb S соответствует концентрациям, обычным для серповидноклеточной анемии. Однако высокое содержание Hb F подавляет в эритроцитах образование серповидноклеточности, поэтому в периферической крови не выявляется серповидноклеточных эритроцитов. Кроме того, форма эритроцитов почти нормальная. Далее, как Hb S, так и Hb F обнаруживают равномерное распре-

деление среди эритроцитов (момент несовпадения с Hb S/β — Th). У этих больных симптомы большей частью отсутствуют.

Поскольку из-за наличия гена наследственной персистенции фетального гемоглобина невозможно переключить формирование γ-цепи на формирование β- и δ-цепей, то в крови ребенка после рождения не может вырабатываться β^A-цепь, тогда как γ-цепь продолжает свое формирование, порождая β^S-цепь. Следовательно, в составе гемоглобина крови не достает Hb A = α₂^A β₂^A, а гемоглобин крови взрослого человека приобретает в своем составе Hb S. Ген наследственной персистенции фетального гемоглобина, находясь на поверхности разных гомологичных хромосом со структурным геном β^S, не может совпадать по согласованности взаимодействия с синтезом соответствующих специфических гемоглобинов.

3) Hb E/талассемия

Заболевание Hb E является гетерогемохроматозом, который проник глубоко за пределы Юго-Восточной Азии (Таиланд, Бирма и т. д.). В той же Юго-Восточной Азии широко распространены α- и β-талассемии. Следовательно, в Юго-Восточной Азии выявляется много индивидов, у которых одновременно содержатся и ген Hb E, и ген талассемии. Заболевание Hb E по существу бессимптомное. И вместе с тем можно обнаружить признаки, говорящие о симптомах Hb E/талассемии (Wasi et al., 1969). Приводим табл. 3.5, согласно которой можно дифференцировать заболевание по составу гемоглобина крови. Из этой таблицы совершенно очевидно, что содержание Hb E контролируется одновременно сосуществующим (на поверхности trans-хромосомы) геном талассемии.

Таблица 3.5

Состав гемоглобина крови при заболевании Hb E и Hb E/талассемии

1. Hb A₁ присутствует в достаточных количествах. Hb E выявляется вместе с A₁, A₂, F и пр.
Коэффициент Hb E в составе гемоглобина
 - а. Около 15% (F 3%, Bart's 7%; имеются в виду новорожденные)
..... болезнь Hb E/Hb H (α⁰/α⁺, β^A/β^A)
 - б. 17 ~ 25% Hb E/α-талассемия (α⁰/α^A, β^A/β^E)
(α⁺/α^A, β^A/β^E)

- в. 25 ~ 30% признак Hb E ($\alpha^A/\alpha^A, \beta^A/\beta^E$)
- г. Около 55% (F 16%, A_1 30%; явные проявления анемии)
Hb E/ β^+ -талассемия ($\alpha^A/\alpha^A, \beta^E/\beta^+$)
2. Дефицит Hb A_1 или же его содержание близко к 0.
Коэффициент Hb E в составе гемоглобина
- а. Около 50% (F около 50%, A_2 — не ясен; резкая форма анемии)
.... Hb E/ β^0 -талассемия ($\alpha^A/\alpha^A, \beta^E/\beta^0$)
- б. Около 85% (F 6 ~ 36%, тяжелая анемия)
.... Hb E/ $\delta\beta$ -талассемия ($\alpha^A/\alpha^A, \beta^E/\delta\beta$ —Th)
- в. Около 85% (F и Bart's около 15%; тяжелая анемия)
.... болезнь Hb E/Hb H ($\alpha^0/\alpha^+, \beta^E/\beta^E$)
- г. Приближается к 100% (наблюдается небольшое увеличение F; анемии нет)
.... болезнь Hb E ($\alpha^A/\alpha^A, \beta^E/\beta^E$)
Hb E/ α -талассемия
($\alpha^+/\alpha^A, \beta^E/\beta^E$)
($\alpha^0/\alpha^A, \beta^E/\beta^E$)

в. Взаимодействие гена талассемии и гена наследственной персистенции фетального гемоглобина

1) Взаимодействие α -талассемии и β -талассемии (α^0 или α^+ — Th/ β^0 —Th)

При α -талассемии содержание Hb A_2 снижено, а при β -талассемии оно увеличивается. В крови индивидов (α —Th/ β^0 —Th) после рождения можно выявить небольшое количество Hb Bart's (γ_4) (особенность α — Th), однако по мере роста он исчезает, а вместо этого начинает обращать на себя внимание увеличение Hb A_2 (особенность β — Th). В целом клинические симптомы у таких индивидов дают картину признаков β -талассемии (Wasi et al., 1969).

2) Сочетание заболевания HbH и β -талассемии (α^0 —Th α^+ Th, β^A/β^0 —Th)

В данном случае воздействием гена β^0 —Th подавляется формирование β^A -цепи, а формирование γ^F -цепи стимулируется, поэтому из-за (α^0 —Th/ α^+ —Th) сдерживается формирование Hb H= β_4^A , характерного для заболевания Hb H, в то время как Hb Bart's= γ_4^F начинает заменять его функцию. По этой причине состав гемоглобина, представляя собой Hb A+Hb Bart's, безотносительно от при-

сутствия гена заболевания Hb A (α^0 —Th/ α^+ —Th), страдает недостатком Hb H. Клинические симптомы напоминают симптомы промежуточной α -талассемии (заболевание Hb H) и промежуточной β -талассемии.

3) Сочетание β -талассемии и гена наследственной персистенции фетального гемоглобина (β^A/β^0 —Th, F/High F)

При этом заболевании Hb F в составе гемоглобина крови подавляет Hb A. А именно, Hb F содержится около 60~70%, остальное количество падает на Hb A₂, причем содержание Hb A₂ не увеличивается. Что касается распределения Hb F внутри эритроцитов, то оно почти равномерное. Между тем клинические симптомы совпадают с симптомами промежуточной талассемии и большой талассемии (увеличение селезенки, монголоидные черты лица и т. д.). В периферической крови выявляются многочисленные мишеневидные эритроциты, указывающие на микросфероцитарную гипохромную анемию (концентрация Hb составляет $\frac{2}{3}$ нормальной).

Очевидно, здесь имеет место сочетание гена α -талассемии с геном наследственной персистенции фетального гемоглобина. Заболевание сопровождается сравнительно легкой степенью гемолитической анемии.

г. Ген Leroge (ген слияния) в сочетании с геном β -талассемии

По своей природе ген Leroge не только вырабатывает при помощи структурного гена слияния- δ — β аномальный гемоглобин Hb Leroge ($\alpha_2^A \sigma\beta_2^{\text{Leroge}}$), но, подавляя формирование β -цепи, еще стимулирует формирование γ -цепи, что свидетельствует о присутствии в нем характерных черт гена β -талассемии. Следовательно, ген Leroge и носитель удвоенной гетерозиготности по β -талассемии по аналогии с большой β -талассемией обнаруживают клинические симптомы острой анемии (Сибата, 1968).

Во всех приведенных выше примерах аномальные гены гемоглобина распространяют свое влияние на нормальные и аномальные гены гемоглобина, расположенные на поверхности *cis* хромосомы (одним из примеров может служить то, что ген β —Th, воздействуя на структурный

ген β -цепи, находящийся на поверхности такой же хромосомы, вынужден производить дефектные мРНК β -цепи), но не распространяют своего влияния на гены гемоглобина, находящиеся в *trans*-положении, и такому предположению можно дать исчерпывающее объяснение. В самом деле, состав гемоглобина в результате сочетания аномальных генов различных групп становится не похожим на нормальный, и хотя по клиническим симптомам результаты влияния генов бывают стертыми, все же следует думать, что пределы воздействия аномальных генов должны быть ограничены той хромосомой, на поверхности которой они расположены, и их влияние не простирается далее чем на парные с ними гены, находящиеся на поверхности гомологичных хромосом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Abramson R. K., D. L. Rucknagel a. D. C. Schreffler 1970 Homologous Hb J Tongariki: evidence for only one alpha chain structural locus in Melanesians. — *Science* 169: 194—196.
- Allen D. W., W. A. Schroeder a. J. Balog 1958 Observations on the chromatographic heterogeneity of normal adult and fetal human hemoglobin: A study of the effects of crystallization and chromatography on the heterogeneity and isoleucine content. — *J. Amer. Chem. Soc.* 80: 1628—1634.
- Atwater J., I. R. Schwartz a. L. M. Tocantins 1960 A variety of human hemoglobin with 4 distinct electrophoretic components. — *Blood* 15: 901—908.
- Baglioni C. a. V. M. Ingram 1961 Four adult hemoglobin types in one person. — *Nature* 189: 465—467.
- Baglioni C. 1962 The fusion of two peptide chains in hemoglobin Lepore and its interpretation as a genetic deletion. — *Proc. Nat. Acad. Sci.* 48: 1880.
- Banabas J. a. C. J. Muller 1962 Hemoglobin Lepore Hollandia. — *Nature* 194: 931—932.
- Bannerman R. M. 1961 *Thalassemia, A survey of Some Aspects.* — Grune and Stratton, New York.
- Bird G. W. G., M. T. Hasan, O. P. Malhatra a. H. Lehmann 1964 Interaction of β -thalassemia and hereditary persistence of foetal haemoglobin. — *J. Med. Genet.* 1: 24—26.
- Boardman N. K. a. S. M. Partridge 1953 Separation of neutral proteins on ion-exchange resins. — *Nature* 17: 208—210.
- Bookchin R. M. a. R. L. Nagel 1971 Ligand-induced conformational dependence of hemoglobin in sickling interactions. *J. Mol. Biol.* 60: 263—270.
- Bookchin R. M., R. L. Nagel, a. H. M. Ranney 1970 The effect of $\beta^{73} \text{Asn}$ on the interaction of sickling haemoglobin. — *Biochim. Biophys. Acta* 221: 373—375.
- Bookchin R. M., R. L. Nagel, H. M. Ranney a. A. S. Jacobs 1966 Hemoglobin C Harlem: a sickling variant containing amino acid

substitutions in
chem. Biophys. R.
Bradley T. B., R. C.
Deletion of five
binding. — *Science*
Braunitzer G., R. C.
V. Rudloff u. B.
normalen adulten
Chem. 325: 283—2
Brimhall R., S. Holl
1970 Multiple al
Res. 18: 184 (по
national Congr. H
Bucci E. a. C. Frontie
and β subunits o
551—552.
Capp G. L., D. A. Rig
a new human he
65—66.
Capp G., D. A. Rigas
bin chain (ζ -chain
Chernoff A. I. 1961 Th
improved method
moglobin. — *J. Chr*
Chernoff A. I. a. N.
hemoglobin. III. A
ties of the polype
(по материалам: U
Chernoff A. I. 1965 Th
The preparation of
bins. — *J. Chromato*
Clegg J. B., M. A. Na
the α and β chains
Clegg J. B., D. J. Wea
stant spring — a ch
340.
Clegg M. D. a. W. A. S
minor components
a comparison of h
individuals. — *J. Am*
Conley C. L., D. J. W
S. Charache
A study of 79 affecte
Blood 21: 261—287.
Colley T. B. a. P. Lee
with anemia and p
Soc. 37: 29—29.
Derrien Y. 1959 On the
In: *Abnormal Haemo*
eds.) 63—78, Blackwe
Douglas C., J. S. Haldan
bination of haemogl
J. Physiol., London 4
Ferris T. G., R. E. East
phoresis in acrylamide

- substitutions in two residues of the β polypeptide chain. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 23: 122—127.
- Bradley T. B., R. C. Wohl a. R. F. Rieder 1967 Hemoglobin Gun Hill: Deletion of five amino acid residues and impaired hemoglobin binding. — *Science* 157: 1581—1583.
- Braunitzer G., R. Gehring-Müller, N. Hilshman, K. Hilse, G. Hobom, V. Rudlaff u. B. Witterman-Liebold 1961 Die Konstitutionen des normalen adulten Human-hämoglobin. — *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 325: 283—286.
- Brimhall R., S. Hollan, R. T. Jones, R. D. Koler a. J. G. Szelenyi 1970 Multiple alpha-chain loci for human hemoglobin. — *Clin. Res.* 18: 184 (по материалам: Abstract volume of the XIII International Congr. Hemat., Munich, 1970, p. 8).
- Bucci E. a. C. Fronticelli 1965 A new method for the preparation of α and β subunits of human hemoglobin. — *J. Biol. Chem.* 240: PC 551—552.
- Capp G. L., D. A. Rigas a. R. T. Jones 1967 Hemoglobin Portland I: a new human hemoglobin unique in structure. — *Science* 157: 65—66.
- Capp G., D. A. Rigas a. R. T. Jones 1970 Evidence for a new hemoglobin chain (ζ -chain). — *Nature*, 228: 278—280.
- Chernoff A. I. 1961 The amino acid composition of hemoglobin. I. An improved method for separating the peptide chains of human hemoglobin. — *J. Chromatog.* 6: 252—257.
- Chernoff A. I. a. N. M. Pettit 1964. The amino acid composition of hemoglobin. III. A qualitative method for identifying abnormalities of the polypeptide chains of hemoglobin. — *Blood* 24: 750 (по материалам: Ueda and Schneider 1969).
- Chernoff A. I. 1965 The amino acid composition of hemoglobin. IV. The preparation of pure polypeptide chains of human hemoglobins. — *J. Chromatog.* 17: 140—148.
- Clegg J. B., M. A. Naughton a. D. J. Weatherall 1968 Separation of the α and β chains of human hemoglobin. — *Nature* 219: 69—70.
- Clegg J. B., D. J. Weatherall a. P. F. Milner 1971 Haemoglobin Constant spring — a chain termination mutant? — *Nature* 234: 337—340.
- Clegg M. D. a. W. A. Schroeder 1959 A chromatographic study of the minor components of normal adult human hemoglobin including a comparison of hemoglobin from normal and phenylketonuric individuals. — *J. Amer. Chem. Soc.* 81: 6065—6099.
- Conley C. L., D. J. Weatherall, S. N. Richardson, M. K. Shepard a. S. Charache 1963 Hereditary persistence of fetal hemoglobin: A study of 79 affected persons in 15 Negro families in Baltimore. — *Blood* 21: 261—287.
- Colley T. B. a. P. Lee 1925 Series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. — *Trans. Amer. Pediat. Soc.* 37: 29—29.
- Derrien Y. 1959 On the heterogeneity of normal human haemoglobins. In: *Abnormal Haemoglobins* (Jonxis J. H. P. a. J. F. Delafresnaye, eds.) 63—78, Blackwell, Oxford.
- Douglas C., J. S. Haldane a. J. B. S. Haldane 1912 The laws of combination of haemoglobin with carbon monoxide and oxygen. — *J. Physiol., London* 44: 275—304.
- Ferris T. G., R. E. Easterling a. R. E. Budd 1962 Hemoglobin electrophoresis in acrylamide gel. — *Blood* 19: 479—482.

- Fessas P. 1968 Heterogeneity of thalassemia. In: Plenary Session Papers, 52—63, XII, Congr. Internation. — Soc. Hemat. — New York.
- Field E. O. a. J. R. P. O'Brien 1955 — Biochem. J. 60:656 (по материалам: Beaven G. H. a. W. B. Gratzner 1959 A critical review of human haemoglobin variants. Part I: Methods for separation and characterization. Part II: Individual haemoglobins. — J. Clin. Path. 12: 1—24, 101—115).
- Flatz G., J. L. Kinderlerer, J. V. Kilmartin a. H. Lehmann 1971 Haemoglobin Tak: a variant with additional residues at the end of the β -chains. — Lancet I (April 10): 732—733.
- Fuhr J., C. Natta, P. A. Marks a. A. Bank 1969 Protein synthesis in cell free systems from reticulocytes of thalassemic patients. — Nature 224: 1305.
- Fujiki N. et al. 1963 Thalassemia syndrome found in Japan. — Acta Haem. Jap. 31: 861—890.
- Gardner L. I. 1961. Molecular genetics and the skein of time. In: Molecular Genetics and Human Disease pp. 3—13, Thomas, Springfield.
- Gerald P. S. 1966 Hb C Georgetown, first abnormal hemoglobin due to two different mutations in the same gene. — J. Clin. Invest. 45: 1012.
- Gerald P. S. a. L. K. Diamond 1958 A new hereditary hemoglobinopathy (the Lepore trait) and its interaction with thalassemia trait — Blood 13: 835.
- Giblett E. R. 1969 Genetic Markers in Human Blood. — Blackwell, Oxford, Edinburgh.
- Ханада Мотонори 1965 Генетика гетерогемохроматоза у японцев. ■ частности теория о триплетном коде. — Никкэцу кайси 31: 277—287.
- Haurowitz F. 1929 Zur Chemie des Blutfarbsoffs. 10. Über die Specificität der Hämoglobine und die v. Krügersche Reaktion. — Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 183: 78—87.
- Harris H. 1970 The Principles of Human Biochemical Genetics. North-Holland Pub. Co. — Amsterdam—London.
- Harris J. W. a. R. W. Kellermeyer 1970 The Red Cell. Harvard Univ. Press, Cambridge.
- Hayashi H. 1961 A simple method for the fractionation of globins into their α - and β -chains. — J. Biochem. 50: 70—71.
- Hill R. J., W. Konigsberg, G. Guidotti a. L. Craig 1962. The structure of human hemoglobin. I. The separation of the α - and β -chains and their amino acid composition. — J. Biol. Chem. 237: 1549—1554.
- Hosoi T. 1968 Fluorescent antibody technique utilized for studies on cellular distribution of erythrocytic antigens. — Acta Haem. Jap. 31: 138—150.
- Hörlein H. u. G. Weber 1948 Über chronische familiäre Methämoglobinämie und eine neue Modifikation des Methämoglobins. — Dtsch. Met. Wschr. 73: 476—478.
- Huehns E. R. a. E. M. Shooter 1962 On the recombination of canine and human haemoglobins. — J. Mol. Biol. 4: 323—328.
- Huehns E. R. a. E. M. Shooter 1965 Human Haemoglobins. — J. Med. Genet. 2: 48—90.
- Huehns E. R., F. V. Flynn, E. A. Butler a. G. H. Beaven 1961 Two new haemoglobin variants in a very young human embryo. — Nature 189: 496—497.

- Huehns E. R., N. Dance, G. H. Beaven, J. V. Keil, F. Hecht a. A. G. Motulsky* 1964 Human embryonic haemoglobins. — *Nature* 201: 1095—1097.
- Huisman T. H. J. a. A. M. Dozy* 1961 Quantitative determination of the minor hemoglobin component Hb A₂ by DEAE-cellulose chromatography. — *Anal. Biochem.* 3: 400—403.
- Huisman T. H. J. a. A. M. Dozy* 1962 Chromatographic behavior of different human hemoglobins on anion exchange cellulose (DEAE-cellulose). — *J. Chromatog.* 7: 180—203.
- Huisman T. H. J. a. W. A. Schroeder* 1971 New Aspects of the Structure, Function and Synthesis of Hemoglobins. — Butterworth—London.
- Huisman T. H. J., E. A. Martis a. A. M. Dozy* 1958 Chromatography of hemoglobin types on carboxymethyl cellulose. — *J. Lab. Clin. Med.* 52: 312—327.
- Hunt J. A.* 1959 Identity of the α chains of adult and foetal human haemoglobins. — *Nature* 183: 1373—1375.
- Ingram V. M.* 1961 Hemoglobin and Its Abnormalities. — Thomas, Springfield.
- Ingram V. M. a. A. O. W. Stretton* 1959 Genetic basis of thalassemic diseases. — *Nature* 184: 1903—1909.
- Ingram V. M.* 1963 The Hemoglobins in Genetics and Evolution. — Columbia Univ. — Press, New York.
- Ingram V. M. a. A. O. W. Stretton* 1961 Human hemoglobin A₂: chemistry, genetics and evolution. — *Nature* 190: 1079—1084.
- Itano H. A.* 1959 Genetic and physical factors in the heterogeneity of haemoglobin. In: *Abnormal Haemoglobins* (Jonxis J. H. P. and J. F. Delafresnaye, eds.) pp. 1—17, Blackwell, Oxford.
- Itano H. A. a. E. Robinson* 1959 Formation of normal and doubly abnormal haemoglobins by recombination of hemoglobin I with S and C. — *Nature* 183: 1799—1800.
- Iuchi I.* 1968 Abnormal hemoglobin in Japan. Biochemical and epidemiologic characters of abnormal hemoglobin in Japan. — *Acta Haem. Jap.* 31: 842—851.
- Iuchi I., I. Takeda, T. Miyaji a. S. Shibata* 1964 Artificial synthesis and hybridization of Hb M Iwate. — *Acta Haem. Jap.* 27: 425—430.
- Jacob G. F. a. A. B. Raper* 1958 Hereditary persistence of foetal haemoglobin production, and its interaction with sickle cell trait. — *Brit. J. Haemat.* 4: 138—149.
- Jones R. T.* 1968 Mechanism underlying polymorphisms in hemoglobins and other proteins. — In: *Plenary Session Papers, XII*, pp. 64—84, Congress International Society of Hematology, N. Y.
- Jones R. T., B. Brimhall, T. H. J. Huisman, E. Kleihauer a. K. Betke* 1966 Abnormal hemoglobin due to deletion of ■ single amino acid residue. — *Science* 154: 1024—1027.
- Kleihauer E., H. Braun a. K. Betke* 1957 Demonstration von fetalem Hämoglobin in den Erythrocyten eines Blutaussstrichs. — *Klin. Wschr.* 35: 637.
- Коман Такаси* 1960 Генетика — в основном о генетике человека. С. 92—93, Бай-Фукан, Токио.
- Konigsberg W., G. Guidotti a. R. J. Hill* 1961 The amino acid sequence of the α chain of human hemoglobin. — *J. Biol. Chem.* 236: PC 55—56.
- Koneman W. E., J. B. Miale a. A. Mason* 1963 Current biochemical and genetic concepts in the diagnosis of sickle cell thalassemia. A study of eight families. — *Amer. J. Clin. Path.* 40: 1: 20.

- Krüger F. 1887 Über die ungleiche Resistenz des Blutfarbstoffs verschiedener Thiere gegen zersetzende Agentien. — Z. Biol. 24: 318—335.
- Kunkel H. G. a. G. Wallenius 1955 New hemoglobin in normal adult blood. — Science 122:288.
- Lehmann H. 1960 Hemoglobinopathy. — Acta Haem. Jap. 23, No. 6 (Suppl.): 20—35.
- Lehmann H. 1970 Different types of alpha-thalassemia and significance of haemoglobin Bart's in neonates. — Lancet II (July 11): 78—80.
- Lehman H. a. R. G. Huntsman 1966 Man's Haemoglobins. — North-Holland Pub. Co. — Amsterdam.
- Marti H. R. 1963 Normale und Anormale Menschliche Hämoglobine. — Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg.
- Масуда Масанори, Фудзика Норисэй 1963 Физиология и патология фетального гемоглобина. — Сипрө 16:198—211.
- Matsuda G., W. A. Schroeder, R. T. Jones a. N. Weliky 1960 Is there an "embryonic" or "primitive human" hemoglobin? — Blood 16: 984—996.
- Мацуда Гэндзи 1961 Фетальный гемоглобин. — Белки, пуклейиновые кислоты, ферменты, 6:257—264.
- Matsuda G. W. A., Schroeder a. N. Matrin 1961 Isolation of the α chain of human fetal globin by dialysis. — Biochim. Biophys. Acta 54: 583—585.
- McCurdy P. R., H. Pearson a. P. S. Gerald 1961 A new hemoglobinopathy of unusual genetic significance. — J. Lab. and Clin. Med. 58: 86—94.
- Meyering C. A., A. L. M. Israels, T. Sebens a. T. H. J. Huisman 1960 Studies on the heterogeneity of hemoglobin. II. The heterogeneity of different human hemoglobin types in carboxymethylcellulose and in Amberlite IRC 50 chromatography: quantitative aspects. — Clin. Chem. Acta 5: 208—222.
- Мияти Такаоки 1968 Анализ гемоглобина. — Никкэцу кайси 31: 99—110.
- Мияти Такаоки, Мацунага Кэйко 1967 Аномальный гемоглобин. — Рипсё бёри, рипдзи дзокан токусю 12:59—71.
- Morrison M. a. J. Z. Cook 1955 Chromatographic fractionation of normal adult Oxyhemoglobin. — Science 122: 920—921.
- Nance W. E. 1963 Genetic control of hemoglobin synthesis. Thalassemia and related disorders may be explained by known properties of regions of genetic duplication. — Science 141: 123—130.
- Neel J. V. 1949 The inheritance of sickling phenomenon with particular reference to sickle cell disease. — Blood 6: 389—412.
- Neel J. V. 1958 Genetic control of hemoglobin synthesis. — Proc. VI th International Congress of the International Society of Hematology (1956), pp. 665—672, Grune and Stratton, New York.
- Ohba Y., T. Miyaji a. S. Shibata 1966 A simple method for determination of chain anomaly of abnormal hemoglobin in hemolysate without preliminary purification. — Acta Haem. Jap. 29: 128—133.
- Ohta Y., K. Yamaoka, I. Sumida, S. Fujita, T. Fujimura a. T. Yanase 1971 Homozygous delta-thalassemia first discovered in Japanese family with hereditary persistence of fetal hemoglobin. — Blood 37: 706—715.
- Ostertag W. a. E. W. Smith 1969. — Eur. J. Biochem. 10: 371.

- Ozawa H. a. K. Satake* 1955. — J. Biochem. 42: 641 (по материалам: *Тая Тэрусэй* 1961 Анализ различных полипептидных цепей гемоглобина (α , β , γ) с помощью электрофореза на фильтровальной бумаге. — Сэйкагаку: 10: 731—737).
- Pauling L., H. A. Itano, S. J. Singer a. I. C. Wells* 1949 Sick cell anemia, a molecular disease. — Science 110: 543—548.
- Petrakis N. L., M. A. Doherty, B. M. Grunbaum a. W. A. Atchley* 1962 Cellulose acetate membranes for the electrophoretic demonstration of hemoglobin A₂. — Acta Haemat. 27: 96—103.
- Porter K. a. F. Sanger* 1948. — Biochem. J. 42: 287 (по материалам: *Тая Тэрусэй* 1961 Анализ различных полипептидных цепей гемоглобина (α , β , γ) с помощью электрофореза на фильтровальной бумаге. — Сэйкагаку: 10: 731—737).
- Pugh R. P., T. V. Monical a. V. Minnich* 1964 Sick cell anemia with two adult hemoglobins — Hb S and Hb G philadelphia/S. — Blood 23: 206—215.
- Ranney H. M.* 1954 Observations on the inheritance of sickle-cell haemoglobin and haemoglobin C. J. — Invest. 33: 1634—1641.
- Raper A. B., D. B. Gammack, E. R. Huehns a. E. M. Shooter* 1960 Four hemoglobins in one individual. A study of the genetic interaction of Hb G and Hb C. — Brit. Med. J. Oct. 29: 1257—1261.
- Reichert E. T. a. A. P. Brown* 1909 The differentiation and specificity of corresponding proteins and other vital substances in relation to biological classification and organic function. — In: The crystallography of the hemoglobins. Pub. No. 116. — Carnegie Institution. — Washington (по материалам: *Itano* 1959).
- Rhinesmith H. S., W. A. Schroeder a. L. Pauling* 1957 A quantitative study of the hydrolysate of human dinitrophenyl (DNP) globin: The number and kind of polypeptide chains in normal adult hemoglobin. — J. Amer. Chem. Soc. 79: 4682—4686.
- Rigas D. A., R. D. Koler a. E. E. Osgood* 1956 Hemoglobin H. Clinical, laboratory and genetic studies of a family with a previously undescribed hemoglobin. — J. Lab. and Clin. Med. 47: 51—64.
- Rosa J., Y. Beuzard, B. Brun a. N. Toulgoat* 1971 Evidence for various types of synthesis of human γ chains of haemoglobin in acquired haematological disorders. — Nature 233: 111—112.
- Sackner M. A., W. J. Dex a. A. I. Kaplan* 1959 Sick cell hemoglobin C disease and pregnancy, including a case of osteomyelitis. — Amer J. Obst. and Gyn. 77: 1328—1329.
- Савамура Кэй* 1969 Изучение эритроцитарного гемолизата человека по картине электрофоретической подвижности дисков. I. Картина электрофоретической подвижности негемоглобиновых белков в эритроцитах крови взрослого человека и пуповинной крови. II. Картина электрофоретической подвижности дисков Hb A₁, A₂ в крови взрослого человека и в пуповинной крови. — Кюсю кэцуэки кэнкю доко кайси 19: 217—223, 19: 225—229.
- Schnek A. G. a. W. A. Schroeder* 1961 The relation between the minor components of whole normal human adult hemoglobin as isolated by chromatography and starch block electrophoresis. — J. Amer. Chem. Soc. 83: 1472—1478.
- Schroeder W. A. a. G. Matsuda* 1958 N-terminal residues of human fetal hemoglobin. — J. Amer. Chem. Soc. 80: 1521.
- Schroeder W. A., J. R. Shelton, J. B. Shelton a. J. Cormick* 1962 Further sequences in the γ chain of human fetal hemoglobin. — Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. 48: 284—287.

- Сибата Сусуму* 1968 Гемоглобинопатии. — Ринсё идэнгаку (составили Иноуэ Эйдзи, Янагасэ Тосиюки), 71—101, Асакура сётэн, Токно.
- Сибата Сусуму* 1970 Гемоглобинопатии. — Игаку по аюми 73: 498—508.
- Сибата Сусуму* 1972 Биохимия состояния пациента. — Ее основы. Исправленное и дополненное издание. — Канабодо, Киото, Токно.
- Сибата Сусуму, Иути Ивао* 1963 Молекулярная структура гемоглобина и ее аномалии. — Ниппон ринсё — 21: 2610—2620.
- Shibata S. a. I. Iuchi* 1961 A simple technique of agar gel electrophoresis for rapid separation of hemoglobins. — Acta Haem. Jap. 24: 51—58.
- Shibata S. a. S. Ueda* 1970 List of abnormal hemoglobins recorded in the world. — Bull. Yamaguchi Med. School 17: 1—22.
- Shibata S., T. Miyaji, N. Matsuda a. Y. Ohba* 1966 A family of high fetal hemoglobin with incidental occurrence of an unclassified hemolytic anemia. — Proc. Japan Acad. 42: 847—852.
- Shibata S., I. Iuchi, S. Ueda, T. Miyaji a. I. Takeda* 1962 Agar gel electrophoresis of the hybrid of canine and human hemoglobins: A simple convenient means for the determination of chain anomaly. — Acta Haem. Jap. 25: 675—681.
- Shibata S., T. Miyaji, S. Ueda, M. Matsuoka, I. Iuchi, K. Yamada a. N. Shinkai* 1970 Hemoglobin Tochigi (β 56—59 deleted). A new unstable hemoglobin discovered in a Japanese family. — Proc. Jap. Acad. 46: 440—445.
- Singer K., A. I. Chernoff, a. L. Singer* 1951 Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation. — Blood 6: 413—428.
- Smith E. W. a. J. V. Torbert* 1958 Two abnormal hemoglobins with evidence for a new genetic locus for hemoglobin formation. — Bull. Johns Hopkins Hosp. 102: 38—45.
- Smithies O.* 1955 Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. — Biochemistry. 61: 624—641.
- Smithies O.* 1959 Zone electrophoresis in starch gels and its application to studies of serum proteins. — In: Advances in Protein Chemistry. 4: 65—114. — Academic Press, New York.
- Take T.* 1961 On the dissociation of hemoglobin under the action of urea. — J. Biochem. 49: 206—210.
- Thompson R. B., J. Odom, R. Warington a. W. N. Bell* 1965 Thalassemia with complete absence of hemoglobin A₂ in an adult. — Acta Haemat. 33: 186—190.
- Tyuma I., R. E. Benesch a. R. Benesch* 1966 The preparation and properties of the isolated α and β subunits of hemoglobin A. — Biochemistry 5: 2957—2962.
- Ueda S. a. R. G. Schneider* 1969 Rapid differentiation of polypeptide chains of hemoglobin by cellulose acetate electrophoresis of hemolysates. — Blood 34: 230—235.
- Wasi P.* 1970 The alpha thalassemia genes. — J. Med. Assoc., Thailand 53: 677—686.
- Wasi P. a. S. Na-Nakorn et al.* 1969 Alpha- and beta-thalassemia in Thai. — Ann. New York Acad. Sci. 165 (Article I): 60—82.

- Weatherall D. J.* 1964 Biochemical phenotypes of thalassemia in the American Negro population. Problems in Cooley's anemia. — *Anns. New York Acad. Sci.* 119: 450—462.
- Weatherall D. J. a. C. Baglioni* 1962 A fetal hemoglobin of unusual genetic interest. — *Blood* 21: 675—685.
- Weatherall D. J. a. C. Baglioni* 1962 Four hemoglobins in each three brothers. genetic and biochemical significance. — *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 3: 143—156.
- Went Z. N. a. J. E. McIver* 1958 An unusual type of hemoglobinopathy resembling sickle cell thalassemia disease in a Jamaican family. — *Blood* 13: 559—568.
- Yakulis V. J. a. P. Heller* 1964 An elution test for the visualization of hemoglobin S in blood smears. — *Blood* 24: 198—201.
- Иосида Садао* 1932 Зоология для вузов. — Т. 2. 995—1000. — Тоё дзусё, Токио, Осака.

Глава IV

НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА УГЛЕВОДОВ И АМИНОКИСЛОТ

4.1. ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ НАРУШЕНИЯМИ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА

Существует очень много разновидностей аномалий обмена сахаров. В тех случаях, когда возникают подобные нарушения, вместе с проявлением препятствий на пути использования данного сахара и обеспечения сахаром в качестве источника энергии возникают также второстепенные препятствия в метаболизме ферментов и липидов, а также в формировании НАД и НАДФ. Таким образом, обнаруживаются самые разнообразные клинические симптомы.

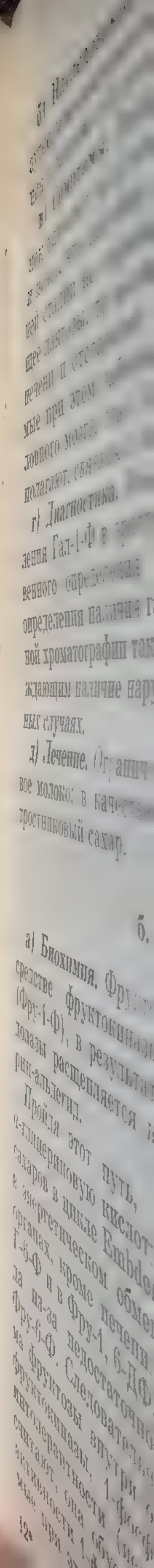
Среди многочисленных симптомов нарушенного метаболизма углеводов следует назвать нарушения функции центральной нервной системы, нарушения функции печени, мышечную патологию, аномалии эритроцитов. Кроме того, широко известны аномалии метаболизма, связанные с нарушением канальцевой реабсорбции почек и всасывания через кишечник. Только в случаях нарушений реабсорбции повторного почечного всасывания встречается много примеров бессимптомности. Часто встречаются больные с аутосомно-рецессивным типом наследования, меньшее число обнаруживает аутосомно-доминантное наследование и рецессивное наследование, сцепленное с полом. Определением активности ферментов стало возможно распознавать гомо- и гетерозиготность при многих заболеваниях, однако в клинической практике наиболее широкое распространение имеет определение активности ферментов по отношению к лейкоцитам и к культуре волокнистой зародышевой клетки.

Аномалии обмена гликогена, диагностируемые у носителей
гомозиготности и гетерозиготности на основании
определения ферментной активности лейкоцитов
(Legum et al., 1969)

Заболевание	Название фермента	Авторы сообщений
Болезнь дефицита Г-6-ФД	Глюкозо-6-фосфат-де- гидрогеназа	Ramot
Галактоземия	Галактозо-1-фосфат- уридилтрансфераза	Weinberg
Болезнь накопления гликогена, тип VI	Печеночная фосфо- рилаза	Hülsmann, Williams
Врожденная ациду- рия оротиновой кис- лоты	Оротозилдекарбокси- лаза	Fallon с соавт.
Болезнь накопления гликогена, тип II	Кислая мальтаза	Huijing с соавт.
Болезнь накопления гликогена, тип III	Debrancher enzyme	Williams, Steinitz
Гемолитическая ане- мия	Триозофосфатизоме- раза	Schneider с соавт.
Гемолитическая ане- мия	Фосфогексоизомераза	Bangham с соавт.
Болезнь накопления гликогена, тип IV	Фермент ветвления	Legum с соавт.
Гемолитическая ане- мия	Фосфоглицеркиназа	Jaffé

а. Галактоземия

а) Биохимия. Галактоза, превратившись в результате воздействия галактокиназы в галактозо-1-фосфат (Гал-1-Ф), под действием Гал-1-фосфат-уридилилтрансферазы превращается в уридииндифосфатгалактозу (УДФ-гал) и глюкозо-1-фосфат (Г-1-Ф). Галактоземия может быть вызвана врожденной недостаточностью фермента Гал-1-Ф-уридилилтрансферазы, но она также известна как заболевание, связанное с дефицитом галактокиназы. В результате неполного распада лактозы, в то время как Гал и Глу всасываются раздельно, в превращении Гал → Глу возникают препятствия, и из-за этого происходит накопление Гал-1-Ф, обладающего токсическим действием. Кроме того, из-за превращения в Глу происходит неполноценное использование энергии, и все это вместе влечет за собой



а) Биохимия. Фруктокиназа в результате действия фруктокиназы (Фру-1-Ф), в результате дозы расщепляется на рип-альтегид.

Пройдя этот путь, глицериновую кислоту сахаров в цикле Embden и энергетическом обмене органах, кроме печени, 1-6-Ф и в Фру-1, 6-ДФ да за недостаточности Фру-6-Ф. Следовательно фруктозы внутри фруктокиназы, 1-фисома фруктокиназы, она становится 1-фисома при 12*

Пройдя этот путь, фруктокиназа в результате расщепляется на рибозальдегид.

Углицириновую кислоту в цикле Embden-Мейерхофа, кроме печеночных клеток и в фру-1, 6-ДФ, а также в фру-6-Ф. Следовательно, фруктозы внутри клетки фруктокиназы, она образует активные 1-фосфорилат при

12*

б) **Наследование.** Наследование при этом дефекте — аутосомно-рецессивное. В Японии также имеются сообщения о данном заболевании.

в) **Симптомы.** Вскоре после рождения, как только ребенок начинает получать молоко, у него появляются рвота и понос, что пагубно действует на развитие. Если на ранней стадии не перевести ребенка на молоко, не содержащее лактозы, то возникают гепатомегалия, а затем цирроз печени и отставание в умственном развитии. Определяемые при этом заболевании поражения печени, почек, головного мозга, глаз (катаракта), гипогликемия, как предполагают, связаны с накоплением Гал и Гал-1-Ф.

г) **Диагностика.** Имеется метод для определения накопления Гал-1-Ф в эритроцитах, а также метод непосредственного определения недостаточности фермента. Метод определения наличия галактозы в моче при помощи обычной хроматографии также может служить тестом, подтверждающим наличие нарушений, в особенности в сомнительных случаях.

д) **Лечение.** Ограничить лактозу переключением на соевое молоко; в качестве сахара употреблять глюкозу и тростниковый сахар.

б. Фруктоземия

а) **Биохимия.** Фруктоза печени, превращаясь при посредстве фруктокиназы печени в фруктозо-1-фосфат (Фру-1-Ф), в результате воздействия 1-фосфофруктоальдозазы расщепляется на фосфодиоксиацетон и D-глицерин-альдегид.

Пройдя этот путь, фруктоза сразу превращается в α-глицериновую кислоту и, вступив на путь расщепления сахаров в цикле Embden—Meyerhof, начинает участвовать в энергетическом обмене веществ. В других внутренних органах, кроме печени, фруктоза иногда превращается в Г-6-Ф и в Фру-1, 6-ДФ, за исключением тех случаев, когда из-за недостаточности гексокиназы превращается в Фру-6-Ф. Следовательно, самый важный путь метаболизма фруктозы внутри организма основывается на работе фруктокиназы, 1-фосфофруктоальдозазы. Что касается интолерантности (непереносимости) к фруктозе, то, как считают, она обуславливается значительным снижением активности 1-фосфофруктоальдозазы в печени. Наблюдаемые при этом заболевании различные нарушения в орга-

низме, как предполагается, являются результатом накопления Фру-1-Ф и ее токсического воздействия. Если накопилось Фру-1-Ф, то подавляется фосфоглюкомутаза и 1,6-дифосфотруктоальдолаза. При этом подавленным оказывается и формирование из гликогена Г-6-Ф, в результате чего снижается показатель концентрации глюкозы в крови.

б) Наследование. Предполагается аутосомно-рецессивное наследование. Это заболевание встречается редко.

в) Симптомы. Если больному давать тростниковый сахар или фруктозу, то у него будет обнаруживаться состояние беспокойства и возбуждения, что является симптомом низкой концентрации сахара в крови. Случается, что вместе с конвульсиями и потерей сознания наступает шоковое состояние. Иногда появляется почечная аминопацидурия, желтуха и пр.

г) Лечение. Избегать употребления продуктов, содержащих фруктовые соки, тростниковый сахар.

в. Недостаточность фруктозо-1,6-дифосфатазы

Это заболевание связано с недостаточностью фруктозо-1,6-дифосфатазы — фермента, имеющего отношение к глюконеогенезу в результате образования фруктозо-6-фосфата посредством дефосфорилирования фруктозо-1,6-дифосфата. Особенности заболевания являются ацидоз, вызванный повышенным содержанием молочной кислоты и кетокислоты, ожирение печени, нормальная кривая концентрации сахара в крови при нагрузке сахаром натощак, в часы наиболее низкой насыщенности крови сахаром. Кроме того, при применении фруктозы и глицерина показатель концентрации сахара в крови очень быстро падает.

г. Лактоземия

Обычно дисахариды, подвергаясь в кишечнике распаду под действием расщепляющего их фермента, превращаются в моносахариды и всасываются. Ферментом, расщепляющим молочный сахар — основной углевод молока — является лактаза. Поэтому при падении концентрации данного фермента или его отсутствии молочный сахар под воздействием бактерий превращается в молочную кислоту и начинается ацидозный хронический понос. Дело заключается не только в наследственной склонности к понижению лактазы; случается, что это состояние возникает и

как результат различных воспалений и пр. Кроме того, иногда заболевание проявляется не сразу, а через несколько месяцев после рождения.

д. Интолерантность к сахарозе

Из-за дефицита фермента, расщепляющего тростниковый сахар, возникают понос, рвота и нарушение всасывания тростникового сахара. Случаи интолерантности к тростниковому сахару часто сопровождаются нарушениями всасывания мальтозы, изомальтозы и т. д. Заболевания же, связанные с дефектом всасывания одного тростникового сахара, пожалуй, редки. Симптомы обнаруживаются при применении тростникового сахара и мальтозы.

е. Врожденная интолерантность к лактозе, связанная с лактозурией

Хотя заболевание по своему течению напоминает понос, оно еще сопровождается неполноценным всасыванием молочного сахара и лактозурией. Заболеванию сопутствуют аминоацидурия и почечный ацидоз. Поскольку имеет место значительное всасывание лактозы из кишечника, предполагают, что это один из видов аномалии в процессе транспорта аминокислот.

ж. Фруктозурия. Доброкачественная фруктозурия

Клинические симптомы отсутствуют. Фруктоза обнаруживается в моче лишь после усвоения организмом тростникового сахара и фруктов. Предполагается, что энзимопатия при данном заболевании является нарушением функции фруктокиназы, которая проявляется на этапе присоединения к фруктозе фосфорной кислоты. И более того, в то время как интолерантность к фруктозе, являющаяся аномалией в метаболизме фруктозы, проявляет острые клинические симптомы, данное заболевание отличается бессимптомностью, поэтому его следует рассматривать, как не имеющее токсического значения, ибо фруктоза — отличие от Фру-1-Ф петоксична.

з. Пентозурия

а) Биохимия. Что касается выделения больших количеств пентозы с мочой, то, помимо алиментарной дистрофии и прогрессирующей мышечной дистрофии, еще име-

ются вопросы первостепенного значения. Особенностью первичной пентозурии является выделение с мочой больших количеств L-ксилулозы. Поэтому предполагают, что имеются нарушения в расщеплении L-ксилулозы. L-ксилулоза сформировалась в результате приобщения к 3-кето-L-глобиновой кислоте, образованной из D-глюкуроновой кислоты, которая далее, пройдя сквозь ксилит, превратилась в D-ксилулозу. Предполагается, что при данном заболевании возникает нарушение в ферменте TRN-ксилите (L-ксилулоза) — дегидрогеназе, который превращает L-ксилулозу в ксилит.

б) Наследование. Наследование аутосомно-рецессивное. Для выявления гетероносителя его натошак нагружают перорально глюкуронолактоном и после нагрузки измеряют содержание L-ксилулозы. Гетероносители обнаруживают средние показатели между соответствующими данными больных и здоровых людей.

в) Симптомы. Заболевание клинически бессимптомное. Поскольку восстановительная реакция положительна, следует дифференцировать диабет от других видов глюкозурии. Проведение специальной терапии не показано.

и. Сахарозурия

Тростниковый сахар в определенных количествах выделяется с мочой и в условиях нормальной физиологии. Поэтому пределы и механизм, предшествующий патологической сахарозурии, остаются пока еще не выясненными. Имеются опубликованные сообщения о случаях сопутствующей грыжи диафрагмы и слабоумия. Хотя встречаются формы заболевания, которые рассматриваются как сахарозурия и к тому же сопровождаются поносом, однако имеются предположения, что этот тип заболевания дифференцируется от заболевания, связанного с недостаточностью фермента, расщепляющего дисахариды.

к. Почечная глюкозурия

Несмотря на почти полное повторное всасывание глюкозы проксимальными почечными мочевыми канальцами при нарушениях в этом аппарате возникает глюкозурия. Помимо наследственной глюкозурии, почечная глюкозурия возникает при нарушениях в почках, которые влекут за собой помехи в проксимальных мочевых канальцах. По-

сколько показатели сахара в крови либо нормальны, либо немного занижены, необходимо дифференцировать данное заболевание с сахарным диабетом. Имеются также примеры, когда глюкозурия сопровождается неполным всасыванием дисахаридов и глюкозы.

л. Гликогенозы (болезни накопления гликогена)

Гликоген, играя важную роль в процессе создания запаса энергии и по необходимости расщепляясь до глюкозы, участвует в поддержании уровня сахара в крови и в обеспечении энергетических затрат. Хотя с самого начала было известно, что заболевания гликогенной этиологии связаны с избыточным накоплением гликогена в тканях, вызванным нарушениями в его расщеплении, за последние годы, по-видимому, постепенно входит в практику обобщать все заболевания, при которых либо в синтезе, либо в расщеплении гликогена наблюдаются изменения в количестве и качестве гликогена, что обусловлено энзимопатиями.

Биохимия. Гликоген представляет собой высокомолекулярное химическое соединение, которое образуется из глюкозы, образующей связь с 1,4-глюкозидом, и из разветвленной боковой цепи, образованной из 1,6-глюкозида. Для синтеза и расщепления гликогена необходимы многочисленные ферменты; кроме того, необходимы гормоны, циклический АМФ (аденозин-3', 5'-монофосфат), АТФ, НАДФ, УТФ и т. д., которые активизируют эти ферменты. В настоящее время заболевания, рассматриваемые как гликогенозы, хорошо известны. Они представлены в табл. 4.1. Широко применяется классификация по видам энзимопатий, наименование которым было присвоено супругами Кори. К какому типу наследования следует причислить тип VII, зависит от каждого отдельного человека. Однако это не представляет большой проблемы. Так как тип наследования предполагается аутосомно-рецессивный, то нередко при выявлении гетерозиготности используются лейкоциты.

1) Гепаторенальный тип, болезнь дефицита глюкозо-6-фосфатазы (von Gierke)

Предполагается, что это — самый распространенный тип. Поскольку не происходит дефосфорилирования Г-6-Ф, в тканях, в частности в клетках печени и почек, накапли-

Заболевания, вызываемые аномалиями в обмене гликогена

Классификация Cori	Дефицитные ферменты	Аномалии в структуре гликогена	Наследование	Основные органы нарушений	Гипогликемия
I. von Gierke	Глю-6-фосфатаза	—	AR	Печень, почки	+
II. Pompe	Кислая мальтаза или α -(1 \rightarrow 4) — глюкозидаза	—	AR	Печень, сердце, мышцы, ЦНС	—
III. Cori	Амило-1,6-глюкозидаза (deb-brancher enzyme)	+	AR	В особенности печень	+
IV. Andersen	Амило-(1,4 \rightarrow 1,6) трансглюкозидаза (brancher enzyme)	+	AR	Печень, селезенка (желтуха)	+ ~ —
V. McArdle	Мышечная фосфорилаза	—	AR?	Мышцы	—
VI. Hers	Печеночная фосфорилаза (имеются также нарушения киназы)	—	AR SR	Печень, почки	+
VII. Lewis	Фермент синтеза гликогена УДФ-глюкозо-гликоген-транс-глюкозилаза	—		Печень, почки	+
VIII. Suii	Фосфофруктокиназа	—	AR	Мышцы, эритроциты	—

вается избыточный гликоген. Поскольку выделение гликогена в кровь встречает препятствия, легко возникает гипогликемия; кроме того, для компенсации препятствий в образовании энергии, для чего служат в основном сахара, мобилизуются жиры, что увеличивает количество кетонных тел, следовательно, легко может возникнуть гиперлипемия и повыситься концентрация пировиноградной и молочной кислот. В результате ацидоза секреция мочевой кислоты из мочевых канальцев тормозится и возникает гиперурикемия и т. д.

Вследствие дефицита расщепляющего фермента Г-6-Ф даже при применении глюкагона и эпинефрина не наступает мобилизации гликогена и содержание глюкозы в крови повышается незначительно. Предполагают, что путем определения показателей активности ферментов в тромбоцитах, клетках печени и в эпителии кишечника имеется возможность диагностировать гетерозиготность.

Симптомы. Вскоре после рождения обращает на себя внимание увеличенная печень. Обнаруживается низкое содержание сахара в крови, и иногда наступают судороги. Увеличиваются размеры обеих почек (нефромегалия), однако из-за увеличенной печени это трудно распознать. Наблюдается отставание в развитии и в росте. По мере развития ребенка в результате ксантоматоза и гиперурикемии, связанных с гиперлипемией, иногда отмечаются подагрические отложения в суставах. В период лактации бывают смертельные случаи в результате ацидоза, но иногда встречаются и сравнительно легкие случаи заболевания.

2) Другие формы заболевания

Часто заболеванию сопутствуют нарушения функции печени. В тех случаях, когда заболевание связано с дефицитом в мышцах фосфорилазы и фосфофруктокиназы, наблюдаются болезненные судороги в мышцах (табл. 4.2).

В тех случаях, когда определяется понижение активности фосфорилазы, при помощи экспериментов устанавливается одновременное наличие аномалий в мышцах и печени и предположительно оценивается возможность нарушений активности фосфорилазы. Известные до настоящего времени заболевания, связанные с понижением фосфорилазы, делятся на три типа: (1) аномалии в активации киназы-фосфорилазы; (2) аномалии киназы-фосфорилазы; (3) дефицит фосфорилазы.

Что касается механизма активации фосфорилазы, то в результате срабатывания аденилциклазы, активированной глюкагоном или эпинефрином, возникает реакция $АТФ \rightarrow$ циклический АМФ, а в присутствии циклического АМФ фосфорилаза-b-киназа активирует неактивную форму фосфорилазы-b-киназы. Фосфорилаза-b-киназа в присутствии АТФ превращает фосфорилазу b в активную форму фосфорилазы a.

Что касается наследственной формы заболевания, связанного с недостаточностью фосфорилазы-киназы, то известно, что имеется рецессивный тип наследования, связанный с полом.

м. Аномалии в обмене пировиноградной кислоты

Пировиноградная кислота обладает обратной реакцией с щавелевоуксусной кислотой и другими кислотами цикла ацетил-КоА и трикарбоновых кислот, которые имеют глубокую взаимосвязь с аланином, молочной и липоевой кислотами, представляющими ряд аминокислот. К метаболизму пировиноградной кислоты в качестве кофермента причастен витамин В₁. В числе врожденных аномалий метаболизма в литературе описаны: дефицит карбоксилазы пировиноградной кислоты, причастной к синтезу щавелевоуксусной кислоты; дефицит декарбоксилазы пировиноградной кислоты, причастной к синтезу ацетил-КоА; заболевание, связанное с снижением тиамина-3-фосфата головного мозга и др. В целом имеется предположение, что часть так называемых подострых цереброспинальных заболеваний азиатского типа, относящихся к младенческому возрасту (Leigh), можно объяснить наличием подобных аномалий в метаболизме.

1) Недостаточность пируваткарбоксилазы

При данном заболевании отмечаются высокие показатели пировиноградной и молочной кислот в крови, причем в некоторых случаях заболевание сопровождается мозговыми нарушениями. При назначении больших доз витамина В₁ нарушения в обмене веществ несколько нормализуются, но случается, что это и не дает эффекта. В случае, описанном Йосида с соавт., у младенца с тяжелой формой психических нарушений, которыми сопровождалась микроцефалия, отмечалась сопутствующая аланинемия, обус-

ловленная недостаточным использованием пировиноградной кислоты. Согласно данным сообщения, при назначении витамина В₁ и липоевой кислоты улучшений не отмечалось.

2) Дефицит пируватдекарбоксилазы

Заболевание описано по данным Blass. Основные жалобы: перемежающаяся дисгармония в мозжечке, произвольные движения. Когда при помощи пирувата-1-¹⁴C попытались образовать в лейкоцитах ¹⁴CO₂, то его содержание не превысило 5% по сравнению с нормальными цифрами, а показатели пируватдекарбоксилазы оказались чрезвычайно заниженными. Значит, если оба родителя здоровы, то имеет место перекрывание генетического кода, поэтому показатели обнаруживают средние данные между данными больных и здоровых людей. При назначении витамина В₁ способность вырабатывать CO₂, как описывается, повышается.

3) Болезнь, связанная с понижением содержания в головном мозге тиамин-3-фосфата

Хотя витамин В₁ (тиамин) чрезвычайно важен как кофермент, тем не менее некоторые полагают, что он выполняет для головного мозга еще другую роль, помимо известной всем доныне функции кофермента. Предполагают, что его роль в качестве кофермента заключается в тиаминпирофосфате (ТПФ), однако в головном мозге имеется тиаминтрифосфат (ТТФ), который по предположительной оценке имеет какое-то определенное значение. В случае, описанном Cooper с соавт., при подостром цереброспинальном заболевании с летальным исходом (Leigh) содержание ТТФ в головном мозге было чрезвычайно низким. Кроме того, согласно его утверждениям подтвердилось, что в моче и крови больного была подавлена реакция $ТПФ + АТФ \rightleftharpoons ТТФ + АДФ$. ТТФ—АТФ-фосфорилтрансфераза, ускоряющая вышеупомянутую реакцию, хотя и содержится в митохондриальных маркерах, в чистом виде пока еще не выделена. Если полагаться на данные Pincus и Cooper с соавт., то эксперимент торможения описанной реакции добавлением мочи полезен при клиническом диагностировании, причем, как они утверждают, аномалии можно проследить и в семейных масштабах.

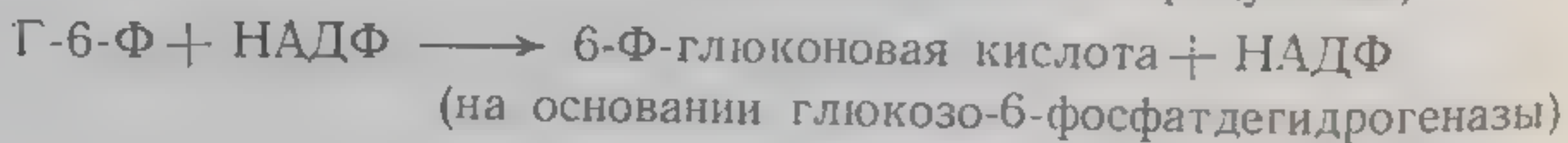
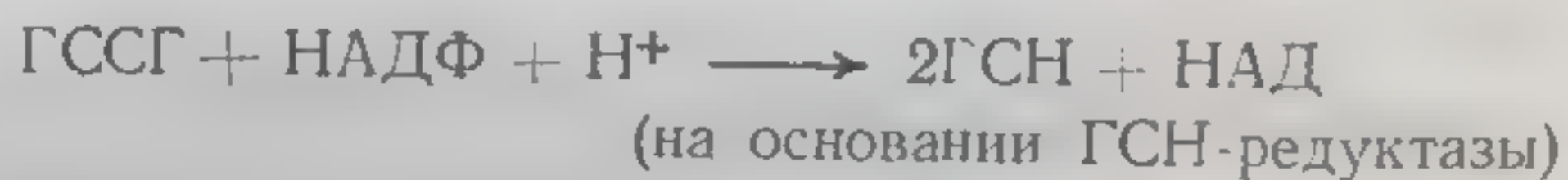
н. Аномалии сахарного метаболизма, вызывающие гемолитическую анемию

Если говорить о так называемой врожденной несфероцитарной эритроцитарной гемолитической анемии в целом, то имеется много примеров, подтверждающих ферментативные аномалии, относящиеся к сахарному метаболизму. Очень часто нарушения, возникающие из-за накоплений гликогена и других веществ при заболеваниях сахарной этиологии, определяются потерей стабильности глутатиона, вытекающей как следствие понижения реакции $\text{НАД} \rightarrow \text{НАДФ}$.

1) Недостаточность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы

Если предположить, что на поверхности X-хромосомы имеется фермент, то в случае его дефицита назначение сульфамидов, хирина, фенаcetина, нафталина, витамина К, нитрофурана и пр. легко вызовет гемолиз. Как правило, хотя это относится главным образом к районам, где часты случаи малярии, плазмодии плохо развиваются внутри эритроцитов, в которых отсутствует данный фермент. Поэтому, как утверждают посетители, уклоняясь благодаря малярии от естественного отбора, увеличились в числе. В Японии заболевание встречается сравнительно редко, среди африканцев — часто. Энзимологически данное заболевание имеет много разновидностей.

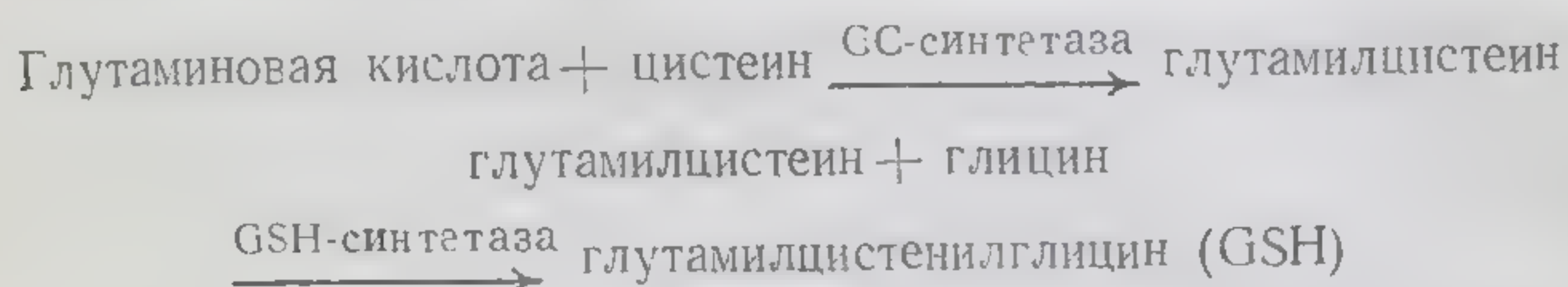
В результате нарушения глутатионовой стабильности снижается содержание восстановленного глутатиона-GSH. Это объясняется необходимостью данного фермента для описанной ниже реакции эритроцитов. В условиях же его полного отсутствия появляется повышенная чувствительность к медикаментам, содержащим оксигруппу



2) Другие виды аномалий

Как известно, в результате дефицита пируваткиназы, глюкозофосфатизомеразы, 2,3-дифосфоглицеромутазы, глутатионредуктазы и пр. возникает несфероцитарная эритроцитарная гемолитическая анемия.

Для синтеза глутатиона *de novo* необходимы глутамилцистеин (GC)-синтетаза и глутатион (GSH)-синтетаза, поэтому в результате дефицита указанных ферментов также возникает гемолитическая анемия. Это:



представляет собой так называемый путь синтеза GSH из аминокислот. Для этой аномалии предполагается аутосомно-рецессивный тип наследования.

о. Мукополисахаридоз. Гаргоилизм

В данном случае имеется в виду группа заболеваний, связанных с накоплением в костях, печени, селезенке мукополисахаридов и их комплексных соединений. Раньше такие полисахариды было принято называть мукополисахаридами, но последнее время их называют также гликозаминогликанами (табл. 4.3).

Таблица 4.3

Классификация гликозаминогликанов

	Уроновая кислота	Гексамин	Серная кислота	N-ацетил	N-серная кислота
Хондроитин-4-серная кислота (A)	Глюкуроновая кислота	Гал	+	+	—
Хондроитин-6-серная кислота (C)	То же	Гал	+	+	—
Дерматан-серная кислота (B)	Идурановая кислота	Гал	+	+	—
Гепаран-серная кислота	Глюкуроновая кислота	Глю	+	+	+
Гиалуроновая кислота	Глюкуроновая кислота	Глю	—	+	—
Гепарин	То же	Глю	+	—	+
Кератан-серная кислота	Галактоза	Глю	+	+	—
Хондроитин	Глюкуроновая кислота	Гал	—	+	—

Мукополисахариды делятся на несколько разновидностей по содержанию уроновой кислоты, аминокислоты, серной кислоты и т. д., а также делятся на несколько раз-

новидностей в зависимости от их наличия или отсутствия. Кроме того, в организме имеется много мукополисахаридов, которые образуют соединения с белками. Несмотря на выделение накопленных в тканях мукополисахаридов с мочой, их разновидности и клиническая картина могут быть классифицированы по типам заболеваний лишь в совокупности с их общими генетическими особенностями. Кроме того, мукополисахаридоз, как следует предполагать, является одной из форм врожденных лизосомных заболеваний, которую следует рассматривать как накопление внутри лизосомы аномальных веществ, вызванное дефектом фермента, точно так же, как при других заболеваниях, — липидозе и II типе гликогенного заболевания Pompe.

Классификация, основанная на веществах, выделяемых с мочой, приведена согласно данным McKusik с соавт., однако позднее были обнаружены новые формы заболеваний (табл. 4.4). Помимо этого, были описаны случаи выделения в мочу хондроитинсульфата. При этом заболевании наблюдаются отложения в головном мозге, печени, селезенке, костях, почках и т. д., однако химическая структура накапливающихся веществ пока еще детально не изучена. Согласно сообщениям, при синдроме Hurler и при синдроме Hunter содержание β -галактозидазы в коже, печени, головном мозге падает ниже 50% нормальной концентрации, однако полного ее дефицита, как при общем ганглиозидозе, не наблюдается. Хотя трудно утверждать, что в первую очередь это обусловлено накоплением кислых мукополисахаридов, однако вполне вероятно, что этим можно объяснить накопление ганглиозидоподобных веществ, наблюдаемое в ткани головного мозга.

При данном заболевании наблюдается экскреция химических веществ со сравнительно низким молекулярным весом, тем не менее предполагают, что пептидные цепи невелики.

Хотя кислые мукополисахариды и подвергаются гидролизу при помощи гиалуронидазы, β -глюкуронидазы, β -ацетилглюкозаминидазы и т. д., в целом они значительно не изменяют этих ферментов. Вместе с тем в литературе описан случай, когда при синдроме Sanfilippo при воздействии сывороткой крови было отмечено увеличение активности этих ферментов.

При наблюдении за захватом меченой $^{35}\text{SO}_4$ культуры волокнистой зародышевой клетки выяснилось, что как при

Таблица 4.4

Мукополисахаридоз
(Spranger, McKusick, Онидзава с соавт.)

	Общее увеличение мукополисахаридов	Гепарансерная кислота	Дерматансерная кислота	Хондроитинсерная кислота	Кератансерная кислота	Наследственность	Степень тяжести заболевания	
							в фиброзной ткани	в костной ткани
Болезнь Hurler	+	+	++	—/+	—	AR	Тяжелая	Тяжелая
Болезнь Hunter	+	++	+	—	—	SR	Легкая	Легкая
Болезнь Sanfilippo	+	++	—	—	—	AR	Тяжелая	То же
Болезнь Morkio	+	—	—	+ / ++	+	AR	Легкая	Очень тяжелая
Болезнь Yurikhissill	+ / —	+ / —	+	—	—	AR	То же	Легкая
Болезнь Murotose	+	— / +	++	—	—	AR	Нет	Очень тяжелая

синдроме Hurler, так и при синдроме Hunter тенденция к захвату кислых мукополисахаридов имеет склонность к аномальному ускорению. Предполагается, что это можно использовать для пренатального диагностирования, если располагать к тому же анализом клетки околоплодной жидкости.

До настоящего времени все еще не было найдено надежного средства для выявления носителя заболевания.

Клиническая картина. Так или иначе при костных поражениях имеются лимфоцитарные вакуоли; кроме того, в зависимости от формы заболевания отмечаются разной степени умственные расстройства, гепатоспленомегалия, помутнение роговицы, нарушения в сердечной мышце, тугоухость и т. д. Если заболевание принимает прогрессирующее течение, то нередко смерть наступает если не через год — два, то в течение 10 лет.

п. Фукозид

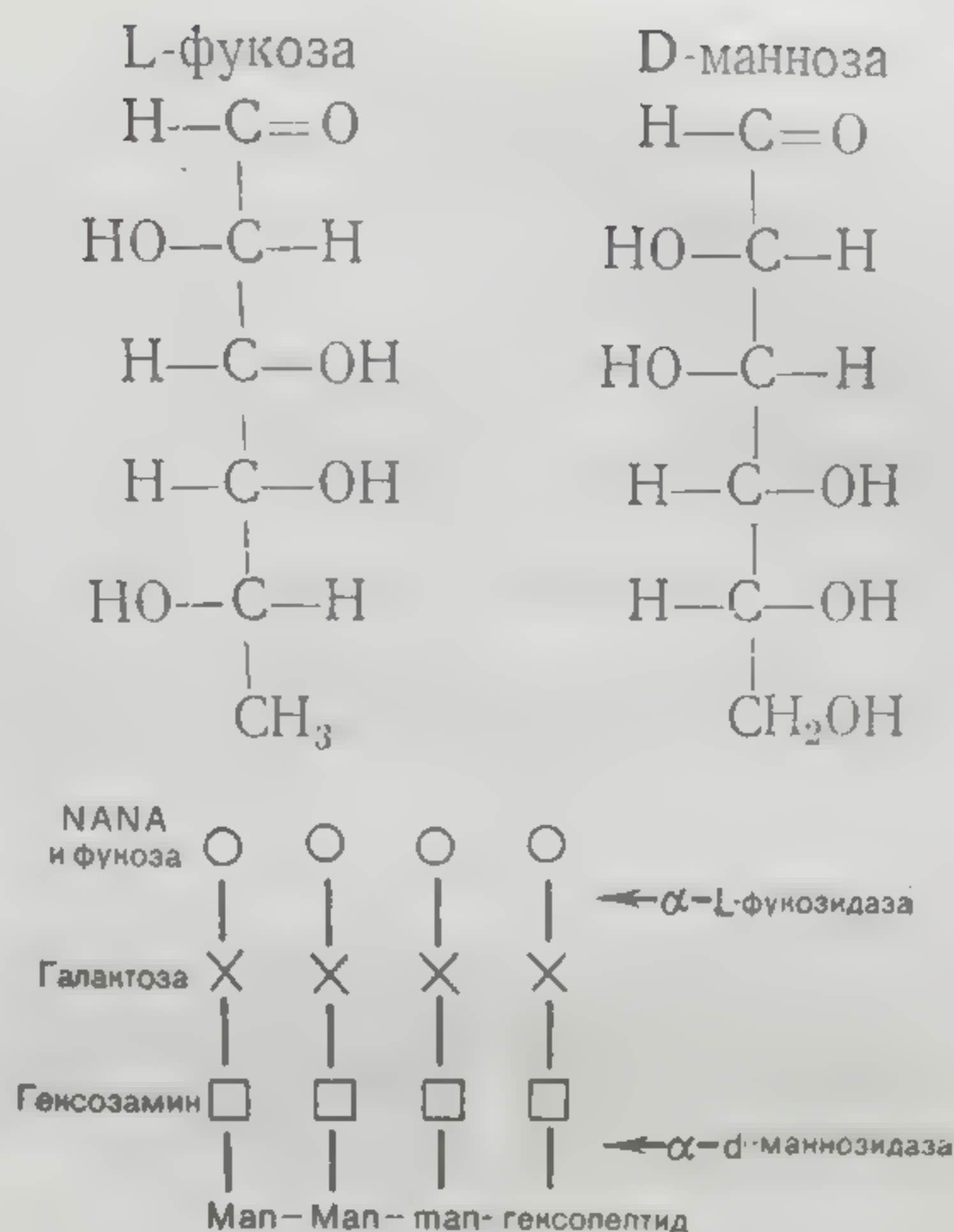
Хотя заболевание имеет сходство с мукополисахаридозом, при данном заболевании накапливаются другие вещества: фукоза и церамидотетрагексозид. Отмечается дефицит α -L-фукозидазы в печени, головном мозге, фибробlastах, сыворотке крови и в моче. Увеличения мукополисахаридов в моче не отмечается. Предполагается аутосомно-рецессивный тип наследования. Фукоза и манноза являются структурными компонентами гликолипидов типа галактозы и сиаловой кислоты, а также гликозилцерамида. Черты лица напоминают гаргоилизм; наблюдаются частые респираторные инфекции; после достижения годовалого возраста отмечается отставание в психике; вместе с ослаблением мышечного тонуса возникают спастические параличи: отмечается расширение сердца, утолщение кожи, искривление позвоночника кзади, лимфоцитарные вакуоли и пр. В печени, головном мозге, сердце, легких, почках, кожных покровах, поджелудочной железе, селезенке и т. д. отмечается накопление содержащих фукозу гликопротеинов и гликозилцерамидов; отмечаются также изменения в нейронах коры головного мозга, в фиброзных телах, в мозжечке и т. д.

р. Маннозидоз

При данном заболевании обнаруживается увеличение маннозы в коре головного мозга, в стволе головного мозга, в печени и т. д., отмечаются атрофия серого вещества, увеличение количества глиальных клеток. В печени и головном мозге наблюдается падение активности α -маннозидазы и, как свидетельствуют об этом результаты, полученные Oskerman, в печени отмечалось: $0,051/\text{г}$ (в сравнении с $0,217 \pm 0,097$), а в головном мозге: $0,008/\text{г}$ (в сравнении с $0,379 \pm 0,120$), тогда как содержание β -галактозидазы, β -глюкуронидазы, N-ацетилглюкозаминидазы, α -L-фукозидазы, оксифосфотазы и пр. было увеличено в 1,5—1,9 раза по сравнению с нормой. Поскольку α -маннозидаза не обнаруживалась ни в сыворотке крови, ни в моче, для диагностики целесообразно использовать измерение активности ферментов в лейкоцитах и тканях. Были выявлены помутнение роговицы, прогрессирующие психические расстройства, искривление позвоночника, лимфоцитарные вакуоли, гипогаммаглобулинемия и т. д.

Рис. 4.2. Обмен фукозы и маннозы (Durand, Borroni).

Фукоза и манноза являются структурными компонентами гликопротеина, поэтому в случае дефицита расщепляющего их фермента приостанавливается ход процесса распада, а из-за этого, как предполагается, приостанавливается действие нейраминидазы, галактозидазы и пр. (рис. 4.2)



4.2. НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА АМИНОКИСЛОТ

Аминокислоты, являясь компонентами белков, абсолютно необходимы для человеческого организма. Аминокислоты, образуя по матрице ДНК пептидные цепи белков, выполняют важную и существенную роль в поддержании функций организма. Кроме того, аминокислоты в соответствии с их разновидностями действием ферментов превращаются в другие аминокислоты, а дезаминируясь превращаясь в сахара и кетокислоты, содействуют поддержанию энергетического обмена. Структуры белков, синтезируемые благодаря аминокислотам, обладают специфическим аминокислотным составом, который основывается на соответствующей генетической информации. Среди аминокислот, служащих материалом, некоторые разновидности могут находиться в избытке, тогда как других — может не хватать, и это может послужить препятствием на пути нормального синтеза белков и повлечь за собой различные нарушения. Кроме того, известны случаи, когда при избыточном количестве некоторых видов аминокислот последние могут оказывать подавляющее воздействие на сопряженные с ними ферменты.

Разновидностей в нарушениях метаболизма аминокислот очень много. Хотя в это число включаются и те, истинная суть которых уже выяснена, и те, существо которых

все еще остается неразгаданным, если сделать попытку дать им общую классификацию, то можно назвать известные всем избыточные и дефицитные аминокислоты, у которых подавлены реакции из-за нарушений в ферментах, сопряженных с метаболизмом некоторых видов аминокислот; аминокислоты, всасывание которых из кишечника и почек встречает препятствия (аномалии транспорта), а также аномалии в коферментах и т. д.

При диагностировании нарушений аминокислотного метаболизма проводится аминокислотный анализ мочи и крови. Однако при одновременном увеличении содержания некоторых видов аминокислот и в крови и в моче считается, что это — гипераминоацидурия. Предполагают, что это — результат нарушений их превращения в продукты расщепления и в другие продукты обмена, что объясняется аномалиями в ферментах или коферментах, оказывающих воздействие на эти аминокислоты. При почечной аминоацидурии, которая не сопровождается увеличением аминокислот в крови, в результате затрудненной реабсорбции почечными мочевыми канальцами соответствующей аминокислоты или нескольких аминокислот обнаруживается их избыточное выделение с мочой. Это заболевание известно как первичная почечная ацидурия. Другая аномалия вызвана нарушением почечных функций и известна как вторичная почечная аминоацидурия.

а. Фенилкетонурия

а) Биохимия. Фенилаланин, являясь жизненно необходимой аминокислотой, содержится в сыворотке крови здорового человека в пределах концентрации 1~3 мг/дл. Фенилаланин после его всасывания с пищей, кроме участия в синтезе белков, окисляется при посредстве фенилаланингидроксилазы в тирозин, далее подвергается процессам метаболизма: меланиновый пигмент → гомогентизиновая кислота → фумаровая кислота → ацетоуксусная кислота. Данное заболевание вызвано врожденным дефицитом фенилаланингидроксилазы.

В результате затрудненного процесса превращения фенилаланина в тирозин в крови увеличивается содержание фенилаланина, что влечет за собой различные нарушения в организме.

Когда фенилаланин становится избыточным, то в результате воздействия трансаминазы, которая в нормаль-

ных условиях почти не оказывает своего влияния, начинает в избыточном количестве вырабатываться фенилпировиноградная кислота, а затем начинает расти содержание фенилуксусной кислоты и фенилмолочной кислоты, причем они в значительных количествах выделяются с мочой. Толчком для открытия данного заболевания послужило окрашивание мочи в зеленый цвет, которое происходит при добавлении в мочу раствора хлорида трехвалентного железа. Это происходит в результате реакции фенилпировиноградной кислоты с фенилкетоновой кислотой.

При данном заболевании содержание фенилаланина в крови, если его просто добавлять к питанию, может достигнуть 20 или 50 мг/дл. Кроме того, его концентрация увеличится и в моче, и во внутренних органах. При данном заболевании кожные покровы бледны, волосы слабо окрашены. Имеются предположения, что это, по всей вероятности, происходит вследствие подавления тирозиназы избыточными концентрациями фенилаланина и его производных, что сокращает образование меланина.

Если больным назначать фенилаланин, то его содержание в крови значительно повышается, а то время как тирозин увеличивается весьма незначительно. Далее, если сравнивать гетеропосителей со здоровыми людьми, то поскольку повышение концентрации тирозина по сравнению с показателем фенилаланина будет незначительным, то, пользуясь соотношением Ty/Ph , имеется возможность поставить диагноз для носителя.

Образование фенилкетоновой кислоты возможно благодаря воздействию трансаминазы. Однако у новорожденных даже при условии увеличения фенилаланина фенилкетоновая кислота не выделяется с мочой, а то время как в более старшем детском возрасте фенилкетоновая кислота регистрируется в моче в количествах свыше 15 мг/дл. Предполагается, что это происходит из-за несовершенного синтеза трансаминазы.

Хотя содержание фенилаланина в головном мозге увеличивается, концентрация дезаминированных кетокислот и прочих производных значительно не увеличивается. Поэтому имеется предположение, что основной причиной церебральных нарушений является увеличение фенилаланина.

Несмотря на множество существующих в настоящее время неразрешенных проблем в этиологии церебральных нарушений, имеются предположения о вероятности пре-

пятствий на пути синтеза белков, которые вызваны захватом других аминокислот внутри головного мозга, происходящим в результате конкуренции аминокислот. Кроме того, предполагается, что имеются препятствия в синтезе серотонина, нарушения в использовании глюкозы. Кроме того, проводятся исследования, посвященные интенсивному подавлению пируватдекарбоксилазы головного мозга фенилпировиноградной кислотой.

б) Наследование. Наследование аутосомно-рецессивное. Частотность гена различна для каждой страны. В Японии частота гена по сравнению с Европой и США, скорее всего, ниже. В Финляндии, как сообщается, скрининг с применением метода Guthrie не подтвердил наличия гена среди 70 000 человек. Результаты скрининга у новорожденных в Европе и США выявили ген в соотношении 1,0—0,7 на каждые 10 000 родившихся. Как публикуется, в результате обследования крупных городов Японии была обнаружена частота менее одного на 20 000 человек. За последние годы благодаря сокращению числа браков между близкими родственниками имеется вероятность в понижении коэффициента частотности гена.

в) Клиника и диагностика. Значительные различия обнаруживаются в различные периоды заболевания, начиная от возникновения в раннем грудном возрасте до почти нормального развития во взрослом состоянии. В большинстве случаев обращает на себя внимание отставание в психическом развитии в 4—5-месячном возрасте. Волосы и кожные покровы имеют тенденцию к бледной окраске, часто отмечается склонность к экземе. Иногда наблюдаются судорожные приступы, напоминающие эпилепсию. У детей более старшего возраста наблюдается гипердинамия, самопроизвольные движения. Когда детям исполняется больше месяца, у большей половины из них можно заметить зеленую окраску при реакции мочи с хлоридом трехвалентного железа, однако существенно необходимо подтвердить также наличие увеличения содержания фенилаланина в крови.

г) Лечение. Тотчас после обнаружения заболевания назначается диета с низким содержанием фенилаланина, при этом необходимо удерживать показатель фенилаланина в крови ниже 5—8 мг/дл. В каждом случае заболевание может отличаться своей особой спецификой, однако если лечение будет начато в пределах 6 мес после рождения, то можно надеяться, что в большинстве случаев дети будут



Рис. 4.3. Путь обмена фенилаланина

развиваться нормально, если психическое отставание не будет восстановлено после рождения.

6. Гиперфенилаланинизм

При данном заболевании показатель концентрации фенилаланина в крови по сравнению с нормой повышен. Показатель фенилаланина в крови ниже: от 5 до 15 мг/дл, то заболевание неопасно, однако при уровне 20—35 мг/дл, характерно для гиперфенилаланинизма. При гиперфенилаланинизме фенилаланин превращается в фенилпировиноградную кислоту, которая накапливается в крови и моче, вызывая симптомы заболевания.

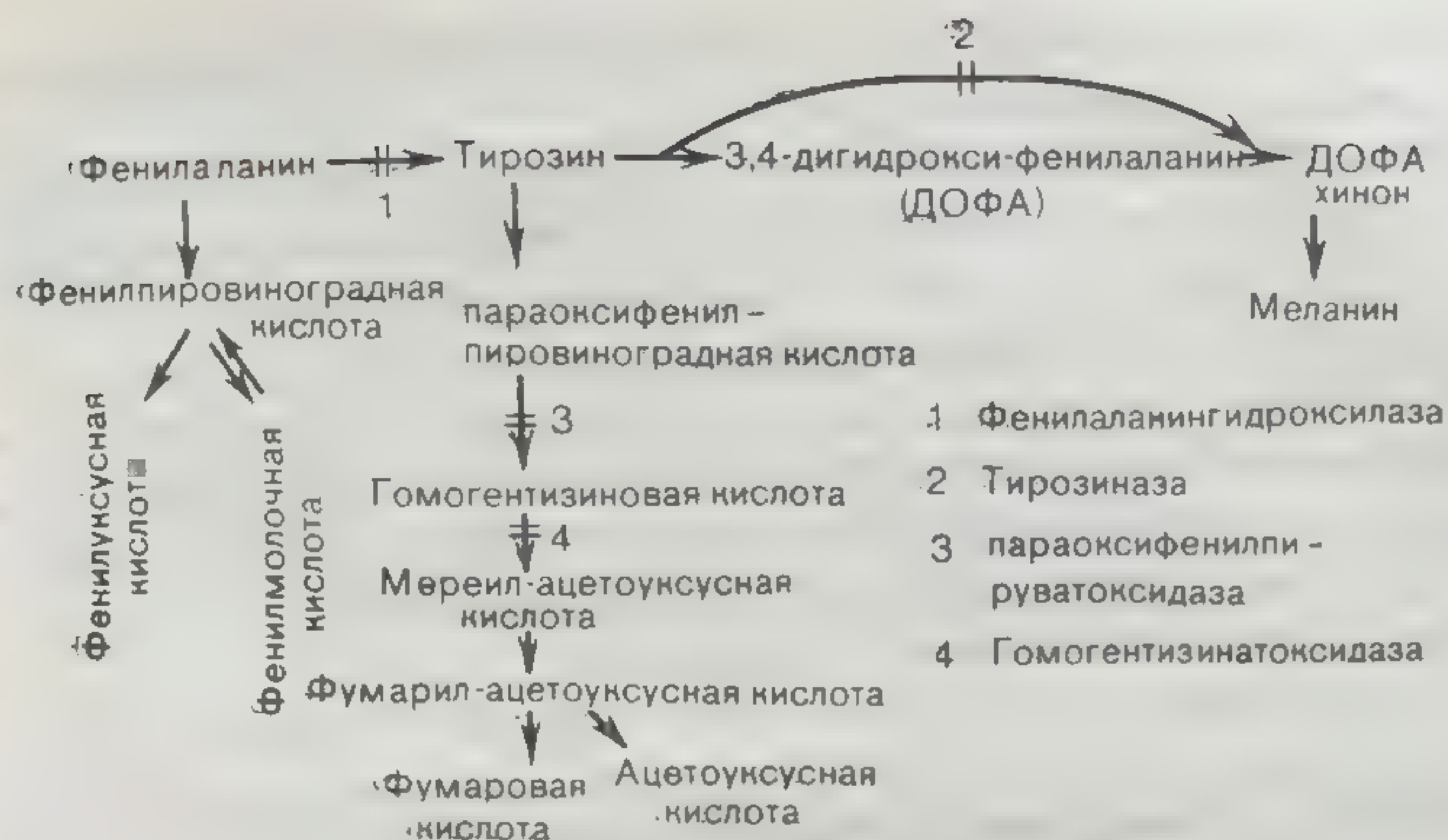


Рис. 4.3. Путь обмена фенилаланина.

развиваться нормально. И напротив, трудно надеяться на восстановление нарушенных умственных способностей, если психическое отставание будет замечено год спустя после рождения.

6. Гиперфенилаланинемия. Атипичная форма фенилкетонурии

При данном заболевании отмечается только повышение показателя концентрации фенилаланина, причем значительного выделения с мочой фенилкетоновой кислоты не обнаруживается. По сравнению с фенилкетонурией прогноз в отношении умственных способностей благоприятный, что было выяснено в результате скринингового обследования многих людей. Обычно показатели фенилаланина в крови по сравнению с соответствующими при фенилкетонурии ниже: от 5 до 20 мг/дл, а в раннем постнатальном периоде транзиторно достигают уровня 50 мг/дл. Реакция хлорида трехвалентного железа в моче чаще отрицательна, однако если показатель фенилаланина превышает 15 мг/дл, то нередко она становится положительной. Показатель фенилаланин: тирозин по сравнению с показателем 20 ~ 35, характерным для классической формы фенилкетонурии, — низкий и, как утверждают, достигает уровня 8 ~ 15.

При гиперфенилаланинемии активность фенилаланин-гидроксилазы в печени в отличие от чуть ли не нулевого

показателя при классической форме фенилкетонурии, как утверждают, достигает $1/10$.

Пока еще не выяснено, какое место занимает гиперфенилаланинемия в наследственном отношении: однако предполагают, что, по всей вероятности, она имеет не одну разновидность. По меньшей мере, думается, что некоторые из ее форм, очевидно, являются гомо- и гетерозиготными вариантами классической фенилкетонурии. Вместе с тем имеются сообщения о возможном существовании ошибки в структуре ферментов и гена-модификатора, а также о вероятности генетических смещений.

Умственные нарушения при данном заболевании по сравнению с классической формой фенилкетонурии менее тяжелые, причем имеется немало примеров, когда умственные способности остаются нормальными. Однако же если заболевание сопровождается высокими концентрациями фенилаланина в грудном возрасте, то может случиться, что умственные способности резко страдают. Если мать больна гиперфенилаланинемией, то родившимся от нее детям угрожает проявление врожденной умственной недостаточности.

в. Альбинизм

Это заболевание, при котором отмечается врожденная недостаточность пигментации кожи, волос, красная сетчатка глаза и т. д., сверхчувствительность к солнечным лучам. Заболевание встречается у людей любой расы. В Японии в тот период, когда заключалось много браков между близкими родственниками, по предположительной оценке, альбиносы появлялись примерно с частотой 1 на 20 000 ~ 40 000 родившихся.

Меланиновый пигмент образуется действием тирозиназы из тирозина, минуя диоксифенилаланин (3,4-дигидроксифенилаланин), допахинол. Данное заболевание, обусловленное дефицитом тирозиназы, хотя и наследуется по аутосомно-рецессивному типу, при частичной недостаточности пигментации может наследоваться также и по аутосомно-доминантному типу и рецессивному типу, сцепленному с полом (частичный альбинизм). Кроме того, известны формы заболевания: (1) витилиго — форма альбинизма, при которой отсутствие пигмента разбросано по отдельным участкам волос и кожи (AD); (2) форма, при которой бывает белая прядь волос на лбу, а по коже раз-

бросаны белые пятна (AD); (3) глазная форма альбинизма, когда обнаруживается дефицит пигмента в верхнем слое сетчатки (SR), нарушения в формировании желтых пятен, косоглазие, слабое зрение и пр.

г. Тирозиноз

Это группа заболеваний, особенностью которых является увеличение концентрации тирозина в сыворотке крови, а также увеличение концентрации тирозина в моче и дезаминированных им парагидроксипировиноградной кислоте (PHPP), молочной кислоте (PHPL), уксусной кислоте (PHPA).

Из-за цирроза печени, почечных нарушений, почечного рахита и неполноценного развития смерть часто наступает в ранние периоды жизни.

Предполагается, что при данном заболевании в результате врожденного дефицита фермента окисления PHPP гомогентизиновая кислота, еще не успев сформироваться, выделяется в виде PHPP и PHPL. В основном, кроме формы заболевания, описанной Сакаи, Китагава с соавт., с увеличенной экскрецией PHPL, еще имеется пример заболевания, описанный Medes с соавт., при котором отмечается повышенное выделение только PHPP. В случае, описанном Medes, не было выявлено особых гепаторенальных нарушений; только позднее при сравнении его с другим примером заболевания, описанным дополнительно, как утверждают, была обнаружена ошибка в клинической картине.

Все описанные случаи заболеваний в детском возрасте позволяют отнести это заболевание к аутосомно-рецессивному типу.

д. Алкаптонурия

При данном заболевании моча от соприкосновения с воздухом чернеет, и заболевание было издавна известно по этому специфическому признаку. Тирозин, дезаминируясь, превращается в гомогентизиновую кислоту; далее гомогентизиновая кислота под воздействием оксидазы окисляется и, превратившись в метилацетоуксусную кислоту боковой цепи, становится ацетоуксусной кислотой. При данном заболевании в результате врожденного дефицита оксидазы гомогентизиновой кислоты происходит накопление гомогентизиновой кислоты и выделение ее в мочу. Считают, что

это — наследственное заболевание аутосомно-рецессивного типа.

В Японии описано довольно много случаев данного заболевания, однако среди них имеются ошибочные примеры, когда реакцией Benedict обнаруживается высокое содержание сахара в моче.

Клинические симптомы не отличаются тяжестью, однако после достижения среднего возраста начинают проявляться деформирующие артриты конечностей, позвоночника. Специфическими признаками считаются боль в крупных суставах, отложение пигмента на слизистой оболочке глаз, отложения гомогентизиновой кислоты на ушных раковинах, носовых хрящах, на сухожилиях рук. Гомогентизиновая кислота чаще всего откладывается в хрящах и суставных сумках и реже — в костях. Сквозь кожу иногда проглядывают суставы и сухожилия зеленовато-сероватого и темно-синего оттенка. Кроме того, иногда выделяющаяся со стулом, с ушной серой, через потовые железы гомогентизиновая кислота изменяет естественную окраску экскрементов и экскретов.

Поскольку аскорбиновая кислота наряду с ионами трехвалентного железа является существенно необходимой для окислительного расщепления в цикле гомогентизиновой кислоты, то количество гомогентизиновой кислоты увеличивается также и в период дефицита аскорбиновой кислоты. Вместе с тем назначение аскорбиновой кислоты при данном заболевании не вызывает улучшения в состоянии больных. Лишь при назначении диеты с низким содержанием фенилаланина и бедной тирозином экскреция гомогентизиновой кислоты уменьшается.

е. Заболевания, связанные с нарушением орнитинового цикла

Хотя при нарушениях в печени обычно обнаруживают гипераммониемию, имеются предположения, что это объясняется нарушением расщепления аминокислот. Аммоний в составе крови, минуя карбамилфосфат, поступает в цикл мочевины и в результате ферментной реакции образует мочевины. Если на этом пути метаболизма встречаются энзимопатии, то процесс связывания аммиака ухудшается и возникает гипераммониемия. До настоящего времени известно пять видов нарушений, связанных с циклом мо-



Рис. 44. Врожденные нарушения цикла мочевины.
1 — карбамилфосфат, 2 — транскарбамиллаза, 3 — цитруратсинтаза, 4 — цитруратсинтаза, 5 — цитруратсинтаза.

чевины, и они указывают на следующие симптомы заболевания: грудного возраста наступают летаргии, микробы, причем после употребления гипераммониевой основы которых лежат иногда встречаются. Предполагается, что с подавлением активности содержания лизин-Н гипераммониемии, гипераммониемии, рапностью с нарушением.

Хотя эти сообщения еще не ясно, аргинин и тирозин в моче увеличиваются, аргинин, орнитин в крови не увеличивается. Имеется предположение, что заболевание связано с нарушением в печени статком уча-

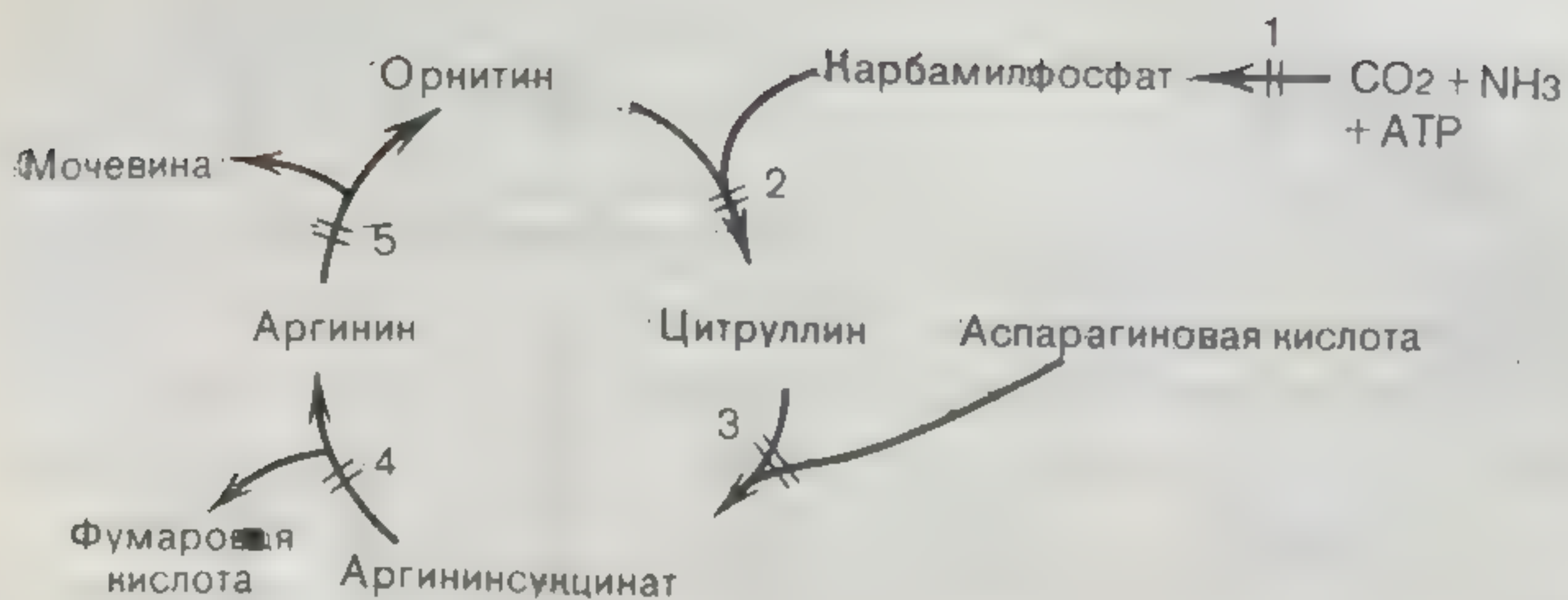


Рис. 4.4. Врожденные аномалии обмена, вызывающие гипераммониемию.

1 — карбамилфосфатсинтетаза — гипераммониемия; 2 — орнитин-транскарбамилаза — гипераммониемия; 3 — аргининсукцинатсинтетаза — цитруллинурия; 4 — аргининсукцинатлиаза — аргининсукцинатурия; 5 — аргиназа — болезнь дефицита аргиназы.

чевины, и они указаны на рис. 4.4. Так или иначе, основными симптомами заболевания являются наблюдаемые с грудного возраста нарушения головного мозга, рвота, приступы летаргии, микроцефалия, спастические параличи и пр., причем после употребления белков отмечается значительная гипераммониемия. Кроме этих заболеваний, в основе которых лежит нарушение цикла мочевины, еще иногда встречаются гиперлизинемия и гипераммониемия.

Предполагается, что интолерантность к лизину связана с подавлением активности аргиназы и обусловлена увеличением содержания лизина в сыворотке крови, вызванным дефицитом лизин-НАД-оксидоредуктазы. Кроме того, в литературе описаны случаи наблюдения перемежающейся гипераммониемии, сопровождавшейся белковой интолерантностью с нарушением транспорта основных аминокислот.

Хотя эти сообщения были сделаны в Финляндии и пока еще не ясно, аналогично ли обстоит дело в Японии, согласно этим данным, при снижении лизина, аргинина, лейцина и тирозина в сыворотке крови количество лизина в моче увеличивается. Как утверждают, при нагрузке аргинином, орнитином, лизином и пр. количество аммония в крови не увеличивается, а при нагрузке аланином — увеличивается. Имеется некоторая неясность в отношении конкретного дефицита ферментов, есть предположение, что это заболевание развивается в результате отсутствия гармонии в круговороте мочевинового цикла в связи с недостатком участвующих в нем аминокислот.

Таблица 4.5

Клиническая картина заболеваний, вызывающих гипераммониемию

	Период возникновения заболевания	Симптомы	Биохимические данные	Ферментный дефицит	Наследственность
Гипераммониемия 1	В грудном возрасте	Летаргия, маленькая голова	$\text{NH}_3 \uparrow$, увеличение глутамина	Печень	AR
Гипераммониемия 2	В детском возрасте	Летаргия, рвота	То же	»	
Цитруллинемия	Во второй половине грудного возраста	Приступы рвоты, потеря сознания, судороги	Увеличение цитруллина	»	
Аргининосукцинатаурия	В грудном возрасте	Отставание в психическом развитии	Увеличение содержания аргинина и янтарной кислоты в моче	Эритроциты, лейкоциты	AR
Болезнь дефицита аргиназы	В грудном возрасте	Рвота, судороги	Гипераргининемия, увеличение цитруллина, лизина в моче	Эритроциты	AR
Интолерантность к лизину	У новорожденных	Рвота, судороги	Повышение содержания лизина	Печень	
Белковая интолерантность, сопровождающаяся аномалиями в транспорте основных аминокислот	После того как ребенка отняли от груди	Рвота, задержка в развитии, отказ от белковой пищи	Временное снижение выведения NH_3 и мочевины	Неясно	AR

Глутамат-оксалацетат-трансаминаза (GOT) и глутамат-пируват-трансаминаза (GPT) сыворотки крови во время приступов при любых обстоятельствах могут давать высокие показатели. Выдвигается гипотеза о том, что причиной церебральных нарушений могут служить нарушения в клетках головного мозга, вызванные гипераммониемией.

В качестве главной лечебной меры назначается диета с низким содержанием белков, с ограничением употребления соответствующих неполноценно расщепляющихся аминокислот, а также с дополнительным введением в организм тех аминокислот, дефицит которых вероятен.

ж. Гиперлизинемия

Особенностью заболевания является увеличение лизина в крови и в моче. Отмечаются судороги, отставание в развитии, пониженный мышечный тонус, повышенный сухожильный рефлекс, гипохромная анемия. Если назначить ^{14}C -лизин и определять в выдыхаемом воздухе $^{14}\text{CO}_2$, то при сопоставлении не будет замечено никаких существенных расхождений. Поэтому вопрос о наличии или отсутствии нарушений в процессе метаболизма этой аминокислоты все еще остается открытым. Вместе с тем нельзя отрицать вероятность помех во включении лизина в белки.

з. Нарушения метаболизма аминокислот, содержащих серу

Среди известных в настоящее время нарушений метаболизма, относящихся к данной группе, следует назвать гомоцистинурию, гиперметионинемию, цистатионинурию, расстройство всасывания метионина, болезнь накопления цистина, цистинурию, β -меркаптолактатцистеин-2-сульфатурию, заболевание дефицита сульфитоксидазы и пр.

Поскольку цистин, гомоцистин, β -меркаптолактатцистеин-2-сульфат дают положительную реакцию с нитропруссидом, их можно выявить путем скринингового исследования мочи.

1) Гомоцистинурия

Предполагается, что цистинурия идет вслед за фенилкетонурией и является заболеванием, при котором происходит нарушение метаболизма многих аминокислот. Однако это — не отдельное заболевание. Как недавно выяснилось,

данное заболевание складывается из нескольких заболеваний, зависящих от органа, в котором происходит нарушение фермента.

а) Биохимия. Следует предполагать, что чаще всего заболевание объясняется врожденным дефицитом цистатионинсинтетазы — фермента, обуславливающего образование цистатиона из гомоцистеина и серина на основе взаимодействия с пиридоксальфосфатом. При этих формах заболевания в моче и в сыворотке крови увеличивается содержание метионина; кроме того, увеличивается экскреция с мочой гомоцистина. Как утверждают, отсутствие заметного увеличения гомоцистина в крови, очевидно, можно объяснить тем, что он (в результате почти полного нарушения повторного всасывания из почек) быстро элиминирован из крови. Поскольку понижение концентрации цистеина и цистатиона отмечается при пониженном содержании цистина — деривата метионина, то предполагают, что назначение диеты с низким содержанием цистина вызывает недостаточность аминокислот, содержащих серу. Назначение больших доз витамина В₆, являющегося коферментом, при данном заболевании иногда до некоторой степени нормализует нарушения метаболизма. Следовательно, имеется вероятность того, что заболевание не является результатом аномалии одного отдельного гена, а может быть обусловлено наличием различных мутаций.

Недавно Mudd с соавт. описали случай заболевания, когда при пониженном содержании метилентетрагидрооксифолатредуктазы добавлением НАД удалось ее повысить. Кроме того, имеются также примеры, подтверждающие нарушения при захвате витамина В₁₂ внутри клетки, а также нарушения абсорбции при пероральном назначении витамина В₁₂.

Заболевание рассматривается как принадлежащее к аутосомно-рецессивному типу наследования. Как утверждают, у гетероносителей после нагрузки метионином в крови надолго сохраняется высокий показатель метионина.

б) Клинические симптомы. Длинные пальцы, нарушение умственных способностей, чрезмерное вытяжение суставов, судороги, смещение хрусталика, повышение степени агглютинации крови и связанные с этим тромбозы являются важнейшими симптомами. Понижение мышечного тонуса иногда также сопровождается атаксией. Описаны также случаи, когда заболевание сопровождается

редкими и грубыми волосами. Как предполагается, клиническая картина данного заболевания основывается на изменениях в кровеносных сосудах, что вызвано нарушениями в использовании метионина, а также изменениями в тканях в результате недостаточности цистина, и на ускорении свертываемости крови. Следовательно, по всей вероятности, в качестве лечения желательно назначать диету с низким содержанием метионина наряду с добавлением пищи цистина. Кроме того, в зависимости от формы заболевания за исключением случаев, характеризующихся дефицитом цистатионинсинтетазы, целесообразно назначать витамин B₆, никотиновую кислоту, витамин B₁₂.

2) Цистиноз

Есть основания думать, что это заболевание является одной из форм так называемого синдрома Fanconi. Несмотря на ряд разногласий по поводу зависимости этого заболевания от нарушений отдельного фермента, поскольку наблюдаются значительные отложения цистина в моче, крови, роговой оболочке глаза, печени, селезенке и в костном мозге, имеется предположение о наличии нарушений в процессе расщепления цистина. Известно, что при этом заболевании содержание цистеина и таурина не увеличено, однако же при назначении ³⁵S-цистина экскреция ³⁵S в моче уменьшается, а концентрация цистеиновой кислоты в крови и моче увеличивается. Содержание цистеинсульфатдекарбоксилазы в печени бывает в пределах нормы. Некоторые предполагают, что аномалия относится к тем процессам межуточного обмена, которые следуют за образованием цистеин-сульфиновой кислоты, однако это не доказано.

Исходя из того что концентрация цистеина не увеличивается, тогда как содержание цистина растет, очевидно, можно допустить, что аномалия может заключаться в нарушении процесса сульфатирования цистина. Кроме того, еще имеется предположение, что это нарушение может происходить из-за дефицита цистинредуктазы. С другой стороны, хотя и имеются гипотезы о первоочередном значении почечных нарушений или о наличии нарушений в использовании аминокислот внутри ретикулоэндотелиальной системы, пока еще невозможно принять решения ни по одному из этих предположений. Заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

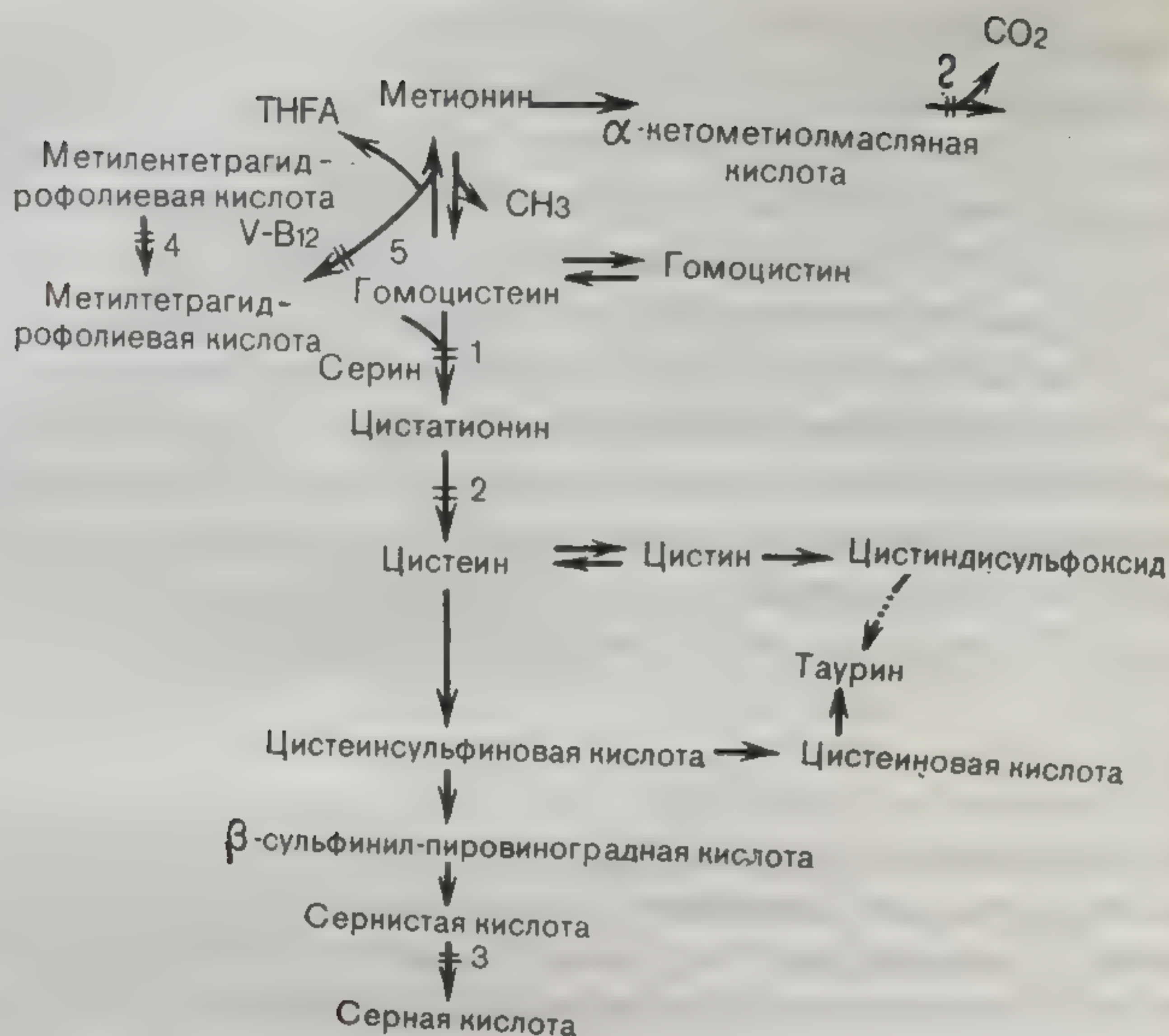


Рис. 4.5. Путь обмена аминокислот, содержащих серу.

1 — цистатионинсинтетаза; 2 — цистатиониназа; 3 — сульфитоксидаза; 4 — метилтетрагидрофолатредуктаза; 5 — метилтетрагидрофолаттрансфераза.

а) Клинические симптомы. Несмотря на отсутствие специфических симптомов, главными признаками заболевания являются: почечные нарушения, а именно: низкий удельный вес мочи, гликозурия, фосфатурия, аминоацидурия и другие нарушения проксимальных мочевых канальцев; протеинурия; рахитообразные изменения костей, которые обычно сопровождают гипофосфатемию; гипокалиемия; отставание в развитии и рвота, характерные для ацидоза. Диагноз подтверждается на основании заключения о наличии кристаллов цистина в костном мозге и в глазу. Зачастую смерть наступает в результате почечной недостаточности.

б) Лечение. Хотя назначение больших доз витамина D, лимоннокислого натрия, калия в значительной мере облегчает клиническую симптоматику, однако не всегда уменьшает почечные нарушения. Назначение пенициллина может снизить накопления цистина и привести к улучшению клинического состояния.

Предполагается, что это происходит благодаря соединению пенициллина с цистином и превращению в соль дисульфокислоты, которая растворяется и выводится из организма.

3) Гиперметионинемия

В литературе описаны случаи, когда наблюдалось увеличение метионина в крови и моче. Можно предполагать, что при гиперметионинемии, помимо нарушений, наблюдаемых при гипертирозинемии, еще могут возникать второстепенные нарушения. Однако в настоящее время все, что связано с обособленностью данного заболевания и его истинной сущностью, еще требует дальнейших исследований.

4) Цистинурия

Основная причина данного заболевания состоит в нарушении повторного всасывания двуосновных аминокислот из почек. Помимо выделения в мочу больших количеств цистина, наблюдается увеличение концентраций лизина, аргинина, орнитина. Содержание цистеина в крови имеет тенденцию к снижению.

При данном заболевании, обусловленном повышенным содержанием цистина в моче, даже назначение цистина внутрь не увеличивает его экскреции в мочу, в то время как назначение цистеина дает увеличение экскреции. Цистин, отличающийся низкой степенью растворимости, кристаллизуется в моче и накапливается, нередко способствуя образованию камней в почках. Кроме того, отмечается плохое всасывание L-аргинина и L-лизина из пищеварительного тракта.

Наследование. Что касается наследования данного заболевания, то легко предположить, что оно наследуется по аутосомно-рецессивному типу, вместе с тем из-за наличия различных мутаций это не всегда одинаково. Обычно при полностью аутосомно-рецессивной форме обнаруживается увеличенная экскреция цистина, лизина, аргинина, орнитина. В то же время, как известно, у носителей гетерозиготности, которые вполне здоровы, и у тех гетероносителей, у которых обнаруживается лишь слабая степень увеличения цистина и лизина, наследование осуществляется по не полностью рецессивному типу.

5) Цистатионинурия

При данном заболевании нарушение происходит в том отрезке метаболического пути, где цистатионин превращается в цистеин и гомосерин и в связи с этим с мочой в больших количествах выделяется цистатионин. Поскольку известны примеры, когда назначение больших доз витамина В₆, являющегося коферментом, понижает концентрацию цистатионина в моче, то, очевидно, можно предполагать о вероятности препятствий в соединении цистатиониназы с витамином В₆.

Какие аномалии проявляет данное заболевание, клинически пока еще не ясно. Исходя из ранее описанных случаев заболевания, имеется немало примеров с умственными нарушениями. И вместе с тем, вполне вероятно, это можно объяснить тем, что дефективные дети чаще подвергаются медицинским обследованиям.

6) β -меркаптолактат-цистеиндисульфидурия

В 1969 г. Amrola, а вслед за ним Crawhall с соавт. провели анализ одного и того же случая заболевания и установили, что это β -меркаптолактат-цистеиндисульфидурия. При нагрузке цистеином отмечается значительное увеличение содержания соединения, являющегося промежуточным продуктом, хотя и у здоровых людей после нагрузки цистеином можно наблюдать незначительное содержание этого вещества. Это соединение дает положительную реакцию мочи с нитропруссидом, что можно использовать при скрининговом обследовании. При этом заболевании обнаруживается слабоумие.

и. Нарушения метаболизма аминокислот

1) Гиперпролинемия

При данном заболевании обнаруживаются аномалии, аналогичные так называемому синдрому Alport — врожденная тугоухость, отклонения в психическом развитии, судороги, вызываемые гиперчувствительностью, почечные нарушения и т. д. Как утверждают, было выявлено увеличение пролина — незаменимой аминокислоты — в крови и моче, а также увеличение экскреции гидроксипролина и глицина в моче.

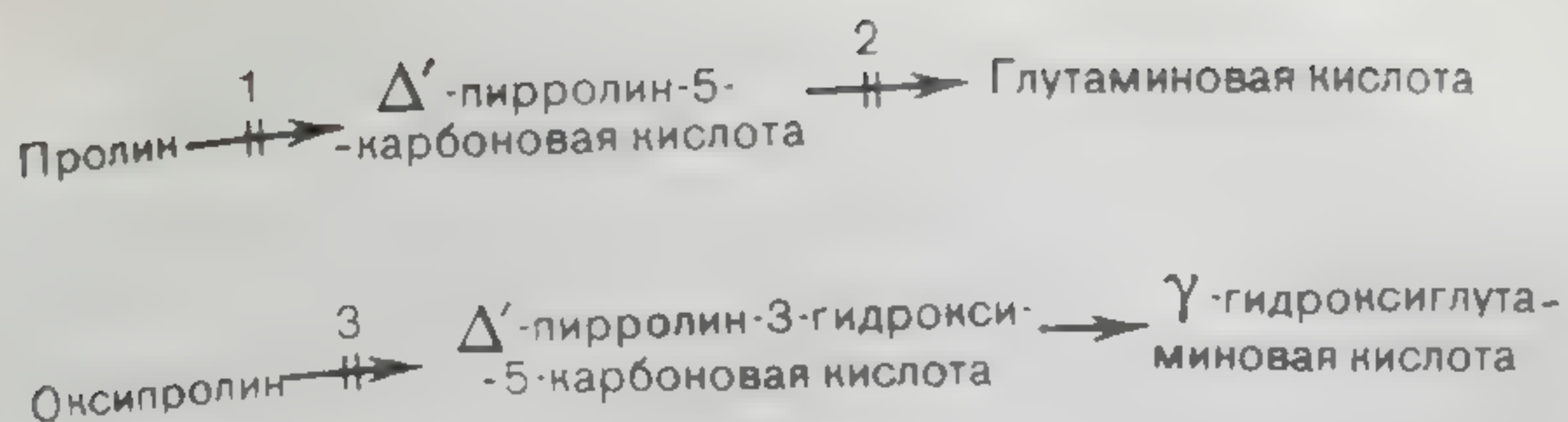


Рис. 4.6. Обмен пролина и оксипролина.

1 — пролиноксидаза; 2 — дегидрогеназа Δ' -пирролин-5-карбоновой кислоты; 3 — оксипролиноксидаза.

Предполагается, что имеющиеся примеры понижения экскреции Δ' -пирролин-5-карбоновой кислоты и примеры увеличения экскреции можно рассматривать как соответственный дефицит пролиноксидазы и дегидрогеназы Δ' -пирролин-5-карбоновой кислоты. Следует думать, что заболевание относится к аутосомно-рецессивному типу наследования.

2) Гидроксипролинемия

В моче и крови отмечается значительное увеличение оксипролина. Судя по ускорению расщепления коллагена, эта форма заболевания отличается от пептидной формы; такое увеличение относится к свободной форме оксипролина. При этом заболевании встречались примеры умственно отсталых детей, однако причинные взаимосвязи этого явления неясны.

3) Пролинурия

В моче наблюдается увеличение выделений пролина и глицина. Основываясь на увеличенной экскреции глицина, пролина, оксипролина, можно предполагать одновременное нарушение реабсорбции этих аминокислот в почечных канальцах.

к. Нарушения метаболизма соединений имидазола

Когда имеют место нарушения путей метаболизма, связанных с гистидином, то возникают изменения в формировании соединений, имеющих имидазольное основание, и в моче возникает аномальное увеличение выделения этих соединений.

2) Ацидурия уроканиновой кислоты

Поскольку обнаруживается увеличение экскреции уроканиновой кислоты, то предполагают, что заболевание обусловлено нарушением в процессе распада уроканиновой кислоты. Тип наследования еще не выяснен, однако если продолжить научный поиск по данным описанных в Японии примеров заболевания, то вполне вероятно его определить.

3) Гиперфолиацидемия (дефицит формиминотрансферазы)

В тех случаях, которые были выявлены в Японии, отмечалось не только увеличение показателя фолиевой кислоты в крови, но и значительное выделение формиминоглутаминовой кислоты (FIGLU) при нагрузке гистидином. Обычно FIGLU накапливается в организме потому, что при дефиците фолиевой кислоты затрудняется формирование формил-ТНФА. Однако, поскольку при данном заболевании не наблюдается снижения показателя фолиевой кислоты, то из-за снижения активности формиминотрансферазы не может произойти соединения FIGLU с тетрагидрофолиевой кислотой (ТНФА), являющейся активной формой фолиевой кислоты, поэтому предполагают, что фолиевая кислота накапливается вместе с FIGLU. Церебральные же нарушения возникают, по всей вероятности, потому, что становится трудно использовать формиловые основания, которые необходимы для синтеза пуриновых тел. Тип наследования пока еще полностью не выяснен. Известны случаи одновременного заболевания двух братьев.

В числе клинических симптомов описаны врожденная умственная отсталость, неполноценное развитие головного мозга, сопровождающееся увеличением желудочка головного мозга, аномалии в коре головного мозга, сопровождающиеся аритмией. Кроме того, как утверждают исследователи, выявляется эритробластическая анемия и положительная реакция мочи с хлоридом трехвалентного железа.

Помимо этого, в литературе описаны случаи гиперфолиацидемии, иллюстрирующие понижение активности N⁵-метилтетрагидрофолиевой кислоты трансферазы.

л. Нарушения метаболизма аминокислот с боковой цепью

Хотя лейцин, изолейцин, валин, соответственно минуя стадию дезаминирования, превращаются в α -кетокислоту, на этом пути возникают аномалии в аминокислотном метаболизме, вызванные препятствиями в осуществлении процесса декарбоксилирования кетокислот. Нарушение активности фермента декарбоксилазы, которая действует обобщенно на кетокислоты этих трех видов аминокислот, связано с лейцинозом — болезнью «кленового сиропа». Заболевание же, обусловленное в основном нарушением в процессе дезаминирования валина, — это гипервалинемия. Кроме того, при нарушениях процесса превращения изовалерил-CoA в β -метилкротонил-CoA описана изовалериановая ацидемия.

1) Болезнь «кленового сиропа»

Если в крови и в моче обнаруживаются высокие показатели концентраций валина, изолейцина, лейцина, то в моче и в крови соответственно возрастает содержание кетокислот, и они приобретают запах кленового сиропа. У таких больных обычно уже в грудном возрасте отмечаются затруднения в сосании, рвота, судороги, что влечет за собой двигательные дисфункции, затрудняет умственное развитие. Зачастую смерть наступает в первой половине периода лактации. И очень редко встречаются такие случаи заболевания, при которых в более старшем возрасте периодически рецидивирует появление симптома «кленового сиропа» и двигательные нарушения.

Так как тип наследования аутосомно-рецессивный, то в целях предотвращения умственных нарушений необходимо, начиная с раннего возраста, назначать диету с низким содержанием лейцина, изолейцина, валина.

Что касается носителей гетерозиготности, то у них показатели активности кетоксидекарбоксилазы в лейкоцитах обнаруживают средние цифры между соответствующими показателями здоровых и больных людей. В Японии описано всего несколько примеров заболевания. И хотя отмечалось пониженное содержание белков и липидов головного мозга, это, очевидно, результат каких-либо нарушений в формировании липидов головного мозга в связи с гипераминоацидемией.

2) Гипервалинемия

Характерным признаком заболевания является повышение валина в крови и моче, не сопровождающееся увеличением содержания кетокислот, что, как утверждают, является нарушением валинтрансаминазы. В тех случаях заболевания, которые были выявлены в Японии, симптомы, как утверждается, отмечаются сразу после рождения — это рвота, затрудненное дыхание, высокая температура.

м. Прочие виды заболеваний

1) Гиперглицинемия

Вследствие высокой концентрации глицина в крови вскоре после рождения начинаются рвота, судороги, кетоз, вызывающие потерю сознания: большинство больных умирает вскоре после рождения, а если выживают, то у них часто отмечается пониженное содержание лейкоцитов и умственная отсталость.

Глицин является аминокислотой самой простой структуры, но, поскольку он участвует в различных путях метаболизма, а также вовлечен в различные комплексы для обеспечения нейтрализации токсических соединений, то следует предполагать, что его влияние проявляется с самых разных сторон.

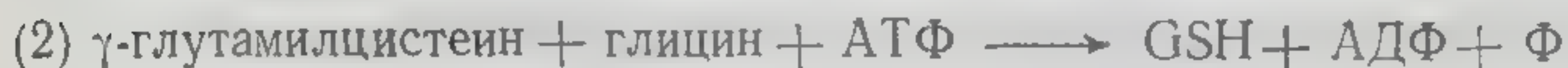
Считают, что при данном заболевании имеются нарушения в реакциях расщепления глицина. Описаны случаи заболевания, которые подтверждают торможение процесса его превращения в серин по сравнению с нормальным и понижение содержания в моче щавелевой кислоты, которое не сопровождается кетозом. Значит, имеется также вероятность предполагать, что данное заболевание не является отдельным.

2) Гиперсаркозинемия

Аномалия выявляется у грудных детей и выражается отставанием в прибавлении веса, а также губкообразным состоянием большого мозга. Хотя в связи с этим состоянием еще остается немало неразрешенных проблем, в литературе описана гипотеза о дефиците саркозиндегидрогеназы.

5) Гемолитическая анемия, вызванная нарушением синтеза глутатиона

Глутатион синтезируется из трех аминокислот, а именно: цистеина, глутаминовой кислоты и глицина. Путь его



реакций делится на два этапа, причем на (1) реакцию воздействует γ -глутамилцистеинсинтетаза, а на (2) реакцию воздействует GSH-синтетаза. Если в любой из этих двух реакций будет отмечаться нарушение, то это легко приведет к гемолизу из-за нарушения синтеза GSH. При данном заболевании, имеющем картину несфероцитарной эритроцитарной анемии, содержание GSH в эритроцитах составляет менее $1/10$ по сравнению с нормальным. Предполагается, что тип наследования аутосомно-рецессивный.

4.3. АНОМАЛИИ ТРАНСПОРТА В ПОЧЕЧНЫХ КАНАЛЬЦАХ

До сих пор говорилось о разного рода нарушениях, а теперь будут обобщены данные о группе заболеваний, при которых отмечаются аномалии в моче, связанные с нарушениями в реабсорбции. В числе известных в настоящее время нарушений реабсорбции почек отмечается вариант, при котором вода, электролит, сахар, аминокислоты и пр. всасываются по отдельности, и вариант, при котором они всасываются вместе. Поэтому, если исходить из вторичных эффектов почечных нарушений, то следует сказать, что некоторые моменты определяются наследственностью. Что касается функциональных нарушений мочевых канальцев наследственного характера, то чаще сахар, аминокислоты, фосфор выделяются в мочу отдельно, и это является следствием нарушения функции проксимальных почечных канальцев. Однако еще имеются многочисленные аномалии, которые возникают в анатомических органах одновременно (синдром Fanconi), а также примеры одновременной экскреции нескольких видов аминокислот, что связано с наследственным аппаратом обобщенного транспор-

та аминокислот. При аномалии в реабсорбции фосфора и кальция легко может возникнуть рахит, при котором вырабатывается устойчивость к витамину D, а при нарушении реабсорбции воды легко возникают церебральные нарушения, что является следствием обезвоживания. Среди других нарушений часто встречаются камни в почках, а также сопутствующие церебральные нарушения. В литературе описано немало таких примеров, однако и число подобных обследований тоже достаточно велико.

Т а б л и ц а 4.6

Аномалии транспорта в мочевых канальцах почек

Повышенная экскреция в моче	Наименование заболевания	Наследственность
Вода	Почечный несахарный диабет	SR
Фосфор	Фосфатный диабет	SD
Кальций	Псевдопонижение функции паращитовидной железы	SR
Глюкоза	Почечная гликозурия	AD
Пентоза	Пентозурия	AR
Аминокислоты		
а. Цистин, лизин, аргинин	Цистинурия	AR
б. Пролин	Пролинурия	
в. Глицин	Глицинурия	AR
г. Общего характера	Болезнь Харднаппа	AR
	Синдром Пейна	SR
	Амилоидный синдром	SR
	Галактоземия	AR
Разносторонние аномалии	Синдром Фанкони	AR
	Цистиноз и прочие разнообразные причины	

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bachmann C.* 1971 Nicht-ketotische Hyperglyzinemie perakuter Verlauf in Neugeborenenalter. — *Helv. Paediat. Acta* 26: 228.
- Baerlocher K., R. Gitzelmann, R. Nüssli et al.* 1971 Infantile lactic acidosis due to hereditary fructose-1, 6-diphosphatase deficiency. — *Helv. Paediat. Acta* 26: 489.
- Baker L. a. A. I. Winegrad* 1970 Fasting hypoglycemia and metabolic acidosis associated with deficiency of hepatic fructose-1, 6-diphosphatase activity. *Lancet* 11: 13.

- Bienzle U., O. Ayeni a. A. O. Lucas 1972 Glucose-6-phosphate dehydrogenase and malaria. — *Lancet* 1: 107.
- Bowden J. A. a. C. L. McArthur 1972 Possible biochemical model for phenylketonuria. — *Nature* 235: 230.
- Brenton D. P., D. C. Cusworth a. G. E. Gaull 1965 Homocystinuria: metabolic studies on 3 patients. — *J. Pediat.* 67: 58—68.
- Crome L. a. N. E. France 1971 The pathological findings in a case of argininosuccinic aciduria. — *J. Ment. Defic. Res.* 15: 266—270.
- Ebels E. J. 1972 Neuropathological observations in a patient with carbamylphosphate synthetase deficiency and in two sibs. — *Arch. Dis. Child* 47: 47—51.
- Эндзётэра Мунэнори, Такацу Тадао, Нусидзава Иосихито, 1968 Основы современной педиатрии. I. Пренатальная педиатрия и конституция организма. — Изд-во Накаяма сётэн. — Токио. То же 1971 г. Компенсация наследственности.
- Esman V. a. N. Hobolth 1969 Heredity of leukocyte phosphorylase and amylo-1,6-glucosidase deficiency. — *J. Pediat.* 74: 90—94.
- Glorieux F. H., C. R. Scriver, E. Delvin a. F. Mohyuddin 1971 Transport and metabolism of sarcosine in hypersarcosinemia and normal phenotypes. — *J. Clin. Invest.* 50: 2313—2322.
- Guttler F. 1972 Persistent hyperphenylalaninemia. — *Acta Ped. Scand.* 61: 321—328.
- Hulsmann W. C. a. J. Fernandes 1971 A child with lactic acidemia and fructose diphosphatase deficiency in the liver. — *Pediat. Res.* 5: 633.
- Kjellman B., I. Camstorp, A. Brun, P.—A. Öckerman a. B. Palmgren 1969 Mannosidosis: a clinical and histopathologic study. — *J. Pediat.* 75: 366—373.
- Konrad P. N., F. Richards, W. N. Valentine a. D. E. Paglia 1972 γ -glutamylcysteine synthetase deficiency: a cause of hereditary hemolytic anemia. — *New Engl. J. Med.* 286: 557—561.
- Landau B. R., J. S. Mames a. J. W. Craig 1971 Quantitation of the pathways of fructose metabolism in normal and fructose-intolerant subjects. — *J. Lab. Clin. Med.* 78: 608—618.
- Legum C. P. a. H. M. Nitowsky 1969 Studies on leukocyte brancher enzyme activity in a family with type IV glycogenesis. — *J. Pediat.* 74: 84—89.
- Levy H. L., V. E. Shih, V. Karolkewicz, W. A. French, J. R. Carr, V. Gas, J. L. Kennedy a. R. A. MacCready 1971 Persistent mild hyperphenyl-alaninemia in the United States. A prospective study. — *New Engl. J. Med.* 285: 424—429.
- Melancon S. B. a. H. L. Nadler 1972 Detection of fructose-1,6-diphosphatase deficiency with use of white blood cells. — *New Engl. J. Med.* 286: 731—732.
- Mohler D. N., P. W. Majerus, V. Minnich, C. E. Hess a. M. D. Garrick 1970 Glutathione synthetase deficiency as a cause of hereditary hemolytic disease. — *New Engl. J. Med.* 283: 1253—1257.
- Mudd S. H., B. W. Uhlenhuth, J. Freeman, J. D. Finkelstein a. V. E. Shih 1972 Homocystinuria associated with decreased methylenetetrahydrofolate reductase activity. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 46: 905—912.
- Pincus J. H. 1972 Subacute necrotizing encephalomyelopathy (Leigh's disease): a consideration of clinical features and etiology. — *Devel. Med. Child Neurol.* 14: 87—101.

- Scheibenreiter S. a. O. Thalhammer* 1972 Hyperphenylalaninemia or phenylketonuria (PKU)? Problems of early distinction in 15 and 34 cases respectively. — *Z. Kinderheilk.* 112: 153—162.
- Shih E. V.* 1970 Pyridoxine-unresponsive homocystinuria. Final diagnosis of M GH case 19471, 1953. — *New Engl. J. Med.* 283: 1206—1208.
- Visakorpi J. K., J. Palo a. O. V. Renkonen* 1971 The incidence of PKU in Finland. — *Acta Paediat. Scand.* 60: 666—668.
- Woolf L. I., W. L. Cranston a. B. L. Goodwin* 1967 Genetics of phenylketonuria. — *Nature* 213: 882.
- Woolf L. I. et al.* 1968 A third allele at the phenylalanine hydroxylase locus in mild phenylketonuria (hyperphenylalaninemia). — *Lancet* I: 114.
- Zimmermann K. G., P. Adolphsen, H. Lenz a. W. Siegenthaler* 1971 Alkaptonurie und Ochronose. — *Dtsch. Med. Wschr.* 97: 242—244.

ВРОЖДЕН

Хотя обычно
ществ, содержа
ты, однако с
содержатся в
Если отдельн
путь метабол
пути препятс
такие липиды
костях органи
ря значительн
определения
ждать диагноз
ма — угадыват
анизме. След
прибегая к из
лп. полученно
можно устано
основании это
При некоторы
еще и проводи
недостающий

Сфинголипи
рые содержат
почечные
собой фосфоли
ского организ
распределяетс
нах; далее м
гликолипиды,
ганглиозиды,
крови
ней

ВРОЖДЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ЛИПИДОВ

Хотя обычно указывают, что липиды — это группа веществ, содержащих внутри своих молекул жирные кислоты, однако состав липидов крайне разнообразен, ■ них содержатся вещества различной химической структуры. Если отдельные липиды, имеющие свой специфический путь метаболизма, встречаются в каком-либо участке этого пути препятствия, обусловленные наследственностью, то такие липиды начинают накапливаться в тканях и в жидкостях организма. В частности, за последние годы благодаря значительному прогрессу в методике одновременного определения липидов появилась возможность подтверждать диагнозы, а благодаря выяснению путей метаболизма — угадывать, каких именно ферментов недостает в организме. Следовательно, даже в период беременности, прибегая к измерению ферментативной активности клетки, полученной из амниотической жидкости эмбриона, можно установить диагноз ожидаемому ребенку и на основании этого диагноза принять меры профилактики. При некоторых же заболеваниях появилась возможность еще и проводить терапию, тем или иным путем восполняя недостающий фермент.

5.1. СФИНГОЛИНИДОЗ

Сфинголипиды — это вещества внутри молекулы, которые содержат в себе так называемые сфингозиновые длинноцепочечные основания; сфингомиелин, представляющий собой фосфолипид, находится в разных частях человеческого организма; цереброзид, являющийся гликолипидом, распределяется в головном мозге, почках и других органах; далее можно перечислить сложные комплексные гликолипиды, начиная с содержащегося в головном мозге ганглиозида и входящего в состав форменных элементов крови и почек глобозида, которые, помимо указанных тканей, содержатся также в других органах тела.

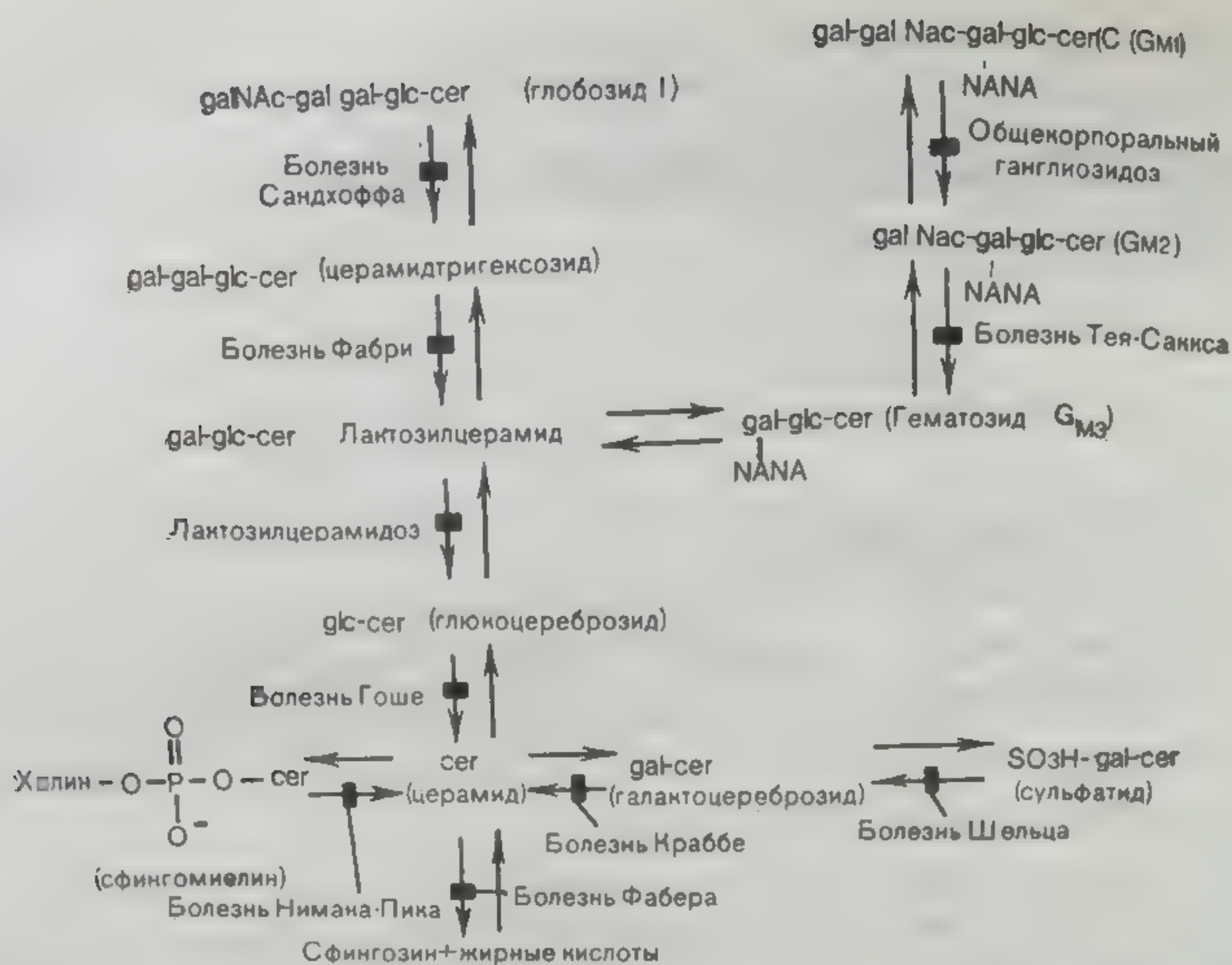


Рис. 5.1. Путь обмена сфинголипидов и виды сфинголипидоза, которые можно проследить в процессе его расщепления (Такэтоми Тамоцу, 1972).

Табл. 5.1 иллюстрирует химическую структуру главнейших сфинголипидов.

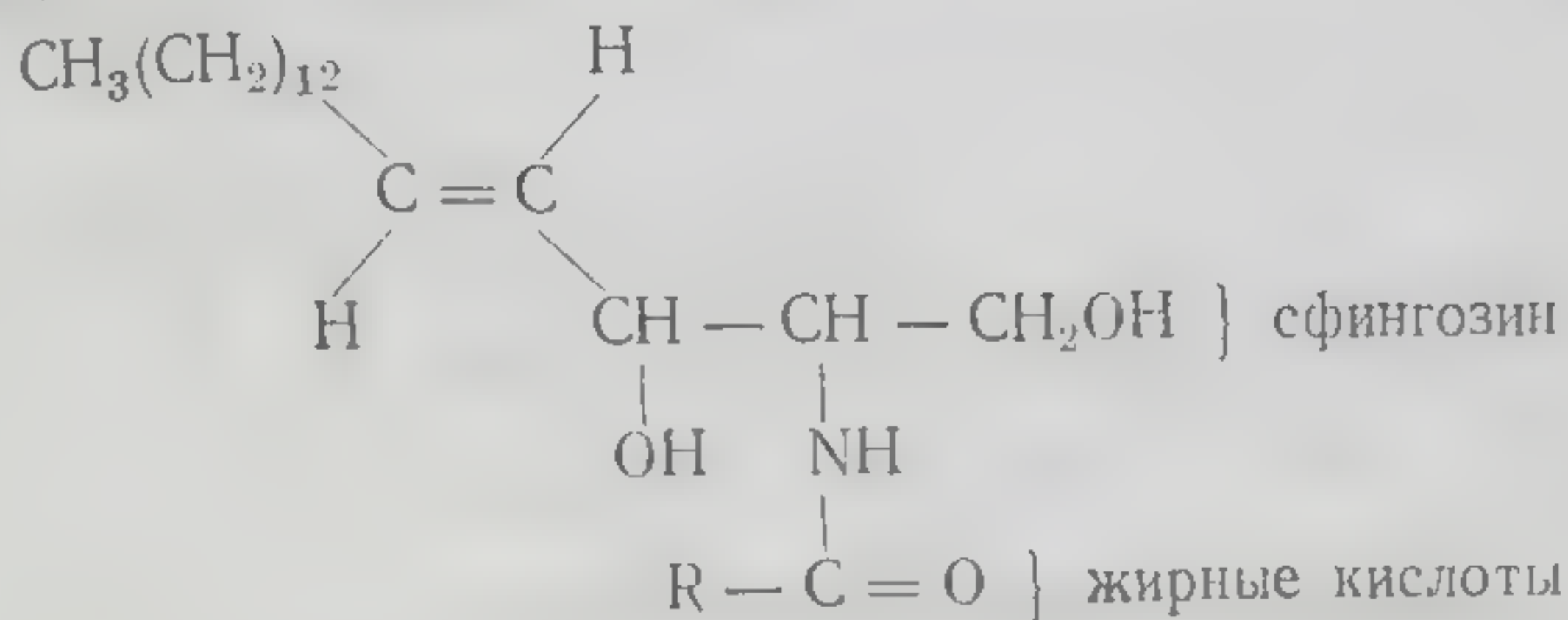
Заболевание, связанное с накоплением сфинголипидов, называют сфинголипидозом. И поскольку такие сложные липиды содержатся в больших количествах в черепно-мозговых нервах, они часто влекут за собой умственные нарушения и проявляются в виде первых симптомов.

Известны следующие разновидности сфинголипидоза, указанные в табл. 5.2 (1~5). Предполагают, что заболевание возникает, как это проиллюстрировано на рис. 5.1, в результате нарушений на пути метаболизма.

Исторически же проф. Klenk (Кёльн, 1935), установив своему пациенту диагноз: болезнь Ниманна—Пика, одновременно определил, что накапливающиеся в печени и селезенке липиды являются сфингомиелином. Кроме того, приблизительно в 1938 г. он назвал липиды, накапливающиеся при болезни Тей—Сакса в головном мозге, «субстанцией X». Вскоре стало понятно, что это — ганглиозид, что явилось событием огромной важности, поскольку ранее липиды, накапливающиеся в селезенке при болезни Гоше, согласно утверждению Lieb, сделанному в 1924 г., считались цереброзидом. Позднее, пока окончательно не

Химическая структура всех видов липидов

1. Церамид:



2. Церамидмоногексазид (цереброзид): церамид-gal, церамид-glc

3. Эфир цереброзида серной кислоты (сульфатид): церамид-gal (3 ←) сульфат

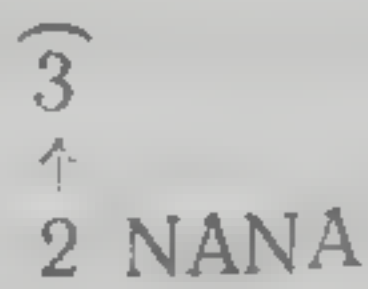
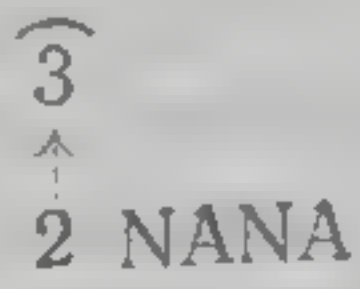
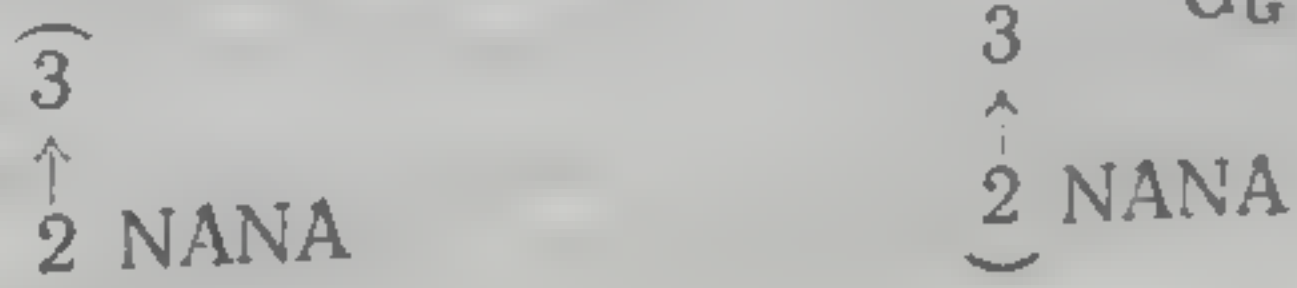
4. Церамидолигогексазид:

церамид-glc (4 $\xleftarrow{\beta}$ 1) gal (лактозилцерамид)церамид-gal (4 $\xleftarrow{\alpha}$ 1) gal (церамиддигалактозид)церамид-glc (4 $\xleftarrow{\beta}$ 1) gal (4 $\xleftarrow{\beta}$ 1) gal (CTH)

5. Глобозид:

Церамид-glc (4 $\xleftarrow{\beta}$ 1) gal (4 $\xleftarrow{\alpha}$ 1) galNAc (глобозид Тея—Сакса)Церамид-glc (4 $\xleftarrow{\beta}$ 1) gal (4 $\xleftarrow{\alpha}$ 1) gal (3 $\xleftarrow{\beta}$ 1) gal NAc (глобозид 1)Церамид-glc (4 $\xleftarrow{\beta}$ 1) gal (4 $\xleftarrow{\alpha}$ 1) gal (3 $\xleftarrow{\beta}$ 1) galNAc (3 $\xleftarrow{\alpha}$ 1) gal NAc (Вольсмангаптен)

6. Ганглиозид:

Церамид-glc (4 ← 1) gal (3 ← 2) NANA G_{M3}, G_{Lact} гематозидЦерамид-glc (4 ← 1) gal (4 ← 1) galNAc G_{M2}, G_{GNTII}, G_0 ганглиозид Тея—СаксаЦерамид-glc (4 ← 1) gal (4 ← 1) galNAc (3 ← 1) gal G_{M1}, G_{GNTI}, G_I Церамид-glc (4 ← 1) gal (4 ← 1) galNAc (3 ← 1) gal $G_{D1a}, G_{GNT2a}, G_{II}$ 

Все эти данные указывали на роль факторов накопления липидов, а их возникновение объясняется дефицитом расщепляющего фермента. Однако, поскольку эти ферменты относятся к так называемым лизосомным энзимам, то и заболевания эти тоже называются лизосомными. Несмотря на возможность окрашивать и наблюдать накапливающиеся внутри клеток липиды при помощи гистохимических способов, использование электронного микроскопа еще зачастую позволяет выявлять тела специфической структуры. Их форма, как утверждают, в известной степени специфична для соответствующего заболевания, но иногда обнаруживается в виде годичных слоев, так называемых мембранных цитоплазматических тел (МСВ) и в виде полосатых тел, называемых зеброобразными телами.

Ниже дается описание с акцентом на биохимию.

а. Глюкоцереброзидоз (болезнь Гоше)

До настоящего времени было описано более 350 случаев заболевания. В качестве основного симптома была обнаружена гепатоспленомегалия. Кроме того, в ретикулоэндотелиальной системе печени, селезенки, лимфатических желез, костномозгового вещества были выявлены клетки Гоше, содержащие глюкоцереброзид. С помощью оптического микроскопа при болезни Ниманна—Пика можно обнаружить, что пенистые клетки не принимают структуры пчелиных сот, а обладают микроретикулярной структурой, напоминающей пористую папиросную бумагу, тогда как под электронным микроскопом видны структурные тельца в виде узких трубочек (рис. 5.2). Согласно сообщению, сделанному Lee (1968), при фотографировании на цветном негативном изображении можно рассмотреть спиралевидную структуру. Он разъясняет, что это происходит потому, что два глюкоцереброзида при периодичности расстояния в 80 Å, имея одинаковые гидрофильные основания (сахаристая часть), обращены друг к другу и образуют правовращающуюся спиралеобразную структуру, состоящую из 10 или 12 фибрилл (рис. 5.3).

Болезнь Гоше подразделяется на младенческую, взрослую и юношескую формы, причем взрослая форма чаще всего наблюдается у лиц еврейской национальности. При младенческой форме смертельный исход наступает в течение первого года жизни с проявлением симптомов нарушения центральной нервной системы. При этом гистологи-

Виды врожденных аномалий липидного обмена

Изменения липидов	Наименование заболевания	Изменения тканей	Дефицитные ферменты
1. Глюкоцереброзид	Болезнь Гоше	Ретикулоэндотели- альная система	Глюкоцереброзидаза
2. Галактоцереброзид	Изменения белого вещества и гли- альных клеток (болезнь Краббэ)	Головной мозг	Галактоцереброзидаза
3. Церамидтригексазид Церамиддигалактозид	Болезнь Фабри	Ретикулоэндотели- альная система, поч- ки	α -Галактозидаза
4. Сульфатиды	Метахроматические изменения белого вещества (болезнь Шоль- ца)	Головной мозг, почки	Сульфатаза
5. Ганглио- зид	G_{M2} (+ asialo G_{M2}) G_{M2} ганглиозидоз (тип I) (бо- лезнь Тея—Сакса)	Головной мозг	β -N-ацетилгексозамини- даза (только компонент A)
	G_{M2} (+ asialo G_{M2} + глобо- зид 1)	G_{M2} ганглиозидоз (тип II) (бо- лезнь Sandhoff)	Головной мозг, внут- ренние органы
	G_{M1} (+ asialo G_{M1})	G_{M1} ганглиозидоз (общий ганглио- зидоз, или псевдоблезнь Hurler)	Головной мозг, внут- ренние органы
			β -галактозидаза
6. Сфингомиелин	Болезнь Нимаппа—Иика	Ретикулоэндотели- альная система	Сфингомиелиназа
7. Фитановая кислота	Болезнь Рефсума	Многие ткани и жид- кости организма	α -Оксидаза фитановой кислоты
8. Эфир холестерина, три- глицерид	Болезнь Волмана	Ретикулоэндотели- альная система	E-600 реактивнокислая эстераза
9. Изовалериановая кисло- та	Изовалерианемия	Сыворотка крови	CoA дегидрогеназа изо- валериановой кислоты
10. Эфир холестерина	Семейное заболевание, связанное с дефицитом эфиров холестерина ■ плазме крови	Сыворотка крови	Лецитин-холестерин- ацил-трансфераза
11. Липопротеиды высокой плотности	Ап- α -липопротеинемия, болезнь Танжера (Fredrickson)	Сыворотка крови, ре- тикулоэндотелиаль- ная система	
12. β -Липопротеиды	A- β -липопротеинемия, акантози- доз (Bassen—Kornzweig)	Сыворотка крови	
13. Триглицериды	Злокачественная гиперлипемия	Сыворотка крови	
14. Лизофосфатизиновая кислота	Фосфолинидоз (не наследственная форма заболевания)	Сыворотка крови, пе- чень	Предполагается любоч- ное действие при приеме коралзила (гексестрол- bis — β -диэтиламиноэти- ловый эфир)

Таблица 5.2

Виды врожденных аномалий липидного обмена

Изменения липидов]	Наименование заболевания	Изменения тканей	Дефицитные ферменты
1. Глюкоцереброзид	Болезнь Гоше	Ретикулоэндотели- альная система	Глюкоцереброзидаза
2. Галактоцереброзид	Изменения белого вещества и гли- альных клеток (болезнь Краббэ)	Головной мозг	Галактоцереброзидаза
3. Церамидтригексазид Церамиддигалактозид	Болезнь Фабри	Ретикулоэндотели- альная система, поч- ки	α -Галактозидаза
4. Сульфатиды	Метахроматические [изменения белого вещества (болезнь Шоль- ца)	Головной мозг, почки	Сульфатаза
5. Ганглио- зид	G_{M2} (+ asialo G_{M2})	Головной мозг	β -N-ацетилгексозамини- даза (только компонент А)
	G_{M2} (+ asialo G_{M2} + глобо- зид 1)	Головной мозг, внут- ренние органы	β -N-ацетилгексозамини- даза (компоненты А, В)
	G_{M1} (+ asialo G_{M1})	Головной мозг, внут- ренние органы	β -галактозидаза

6. Сфингомиелин	Болезнь Ниманна—Пика
7. Фитановая кислота	Болезнь Рефсума
8. Эфир холестерина, три- глицерид	Болезнь Волмана
Изобутирионовая кисло- та	Изобутирионемия

Ретикулоэндотели-
альная система
Многие ткани и жид-
кости организма
Ретикулоэндотели-
альная система
Сыворотка крови

Сфингомиелидаза
 α -Оксидаза фитановой
кислоты
Е 600 реактивнокислотная
эстераза
CoA дегидрогеназа

6. Сфингомиелин	Болезнь Ниманна—Пика	Ретикулоэндотели- альная система	Сфингомиелиназа
7. Фитановая кислота	Болезнь Рефсума	Многие ткани и жид- кости организма	α -Оксидаза фитановой кислоты
8. Эфир холестерина, три- глицерид	Болезнь Волмана	Ретикулоэндотели- альная система	E-600 реактивно-кислая эстераза
9. Изовалериановая кисло- та	Изовалерианемия	Сыворотка крови	CoA дегидрогеназа изо- валериановой кислоты
10. Эфир холестерина	Семейное заболевание, связанное с дефицитом эфиров холестерина в плазме крови	Сыворотка крови	Лецитин-холестерин- ацил-трансфераза
11. Липопротеиды высокой плотности	Ан- α -липопротеинемия, болезнь Танжера (Fredrickson)	Сыворотка крови, ре- тикулоэндотелиаль- ная система	
12. β -Липопротеиды	А- β -липопротеинемия, акаптози- доз (Bassen—Kornzweig)	Сыворотка крови	
13. Триглицериды	Злокачественная гиперлипемия	Сыворотка крови	
14. Лизофосфатизиновая кислота	Фосфолипидоз (не наследственная форма заболевания)	Сыворотка крови, пе- чень	Предполагается побоч- ное действие при приеме коралзила (гексестрол- bis — β -диэтиламиноэти- ловый эфир)

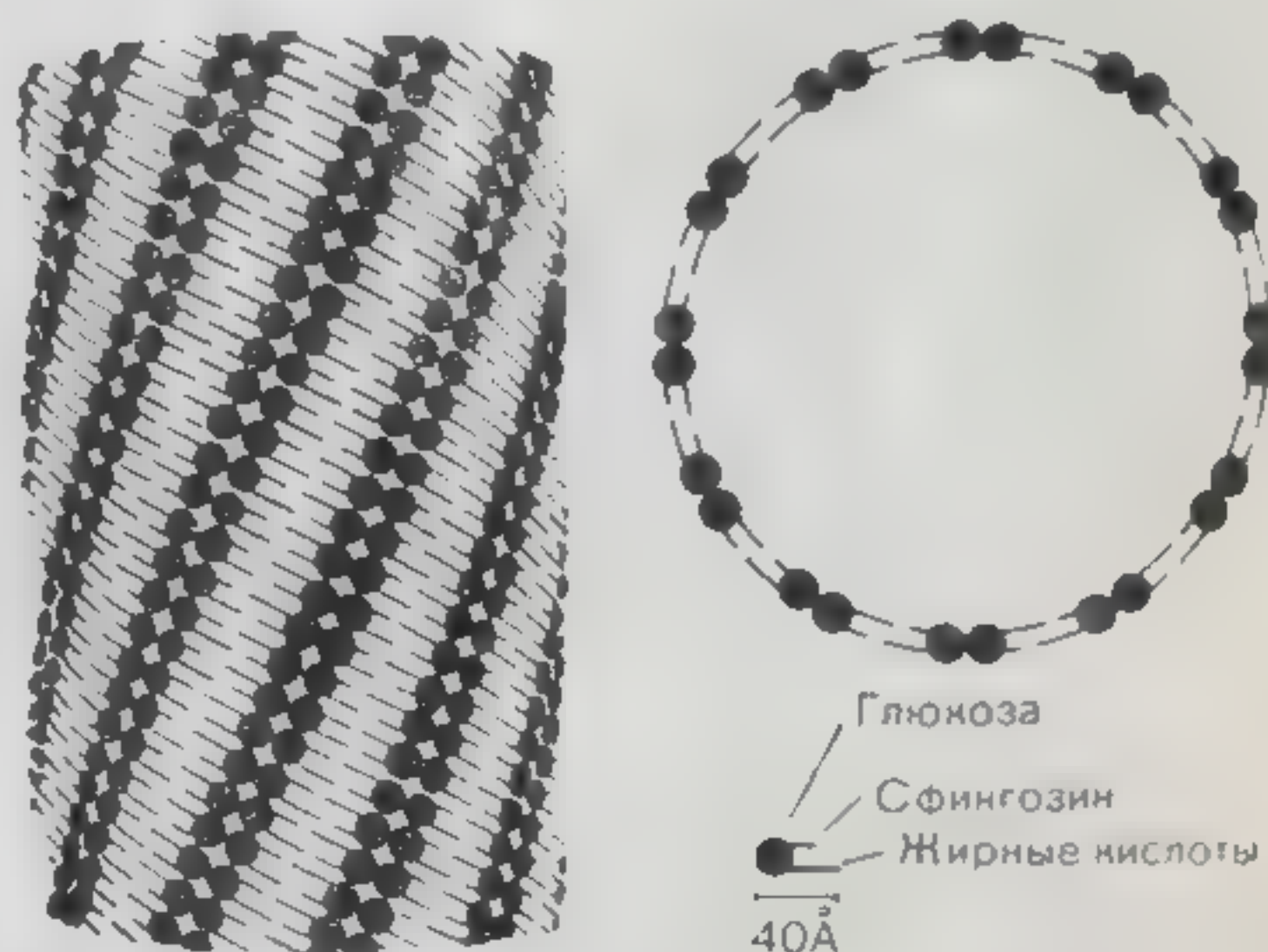


Рис. 5.2.

Спиралевидные трубчатовидные структурные тельца внутри клеток Гоше, карбоноплатиновое напыление ($\times 135\,000$) (Lee, 1968).

Рис. 5.3.

Модель, иллюстрирующая образование трубочек молекулами глюкоцереброзида (Lee, 1968).



ческие изменения в головном мозге неспецифичны, в кровотоке же можно обнаружить клетки, напоминающие клетки Гоше. Кроме того, раньше утверждали, что глюкоцереброзид не бывает увеличен, а за последнее время были описаны примеры заболевания с некоторым увеличением его концентрации. Еще имеются сообщения, подтверждающие, что, кроме явного увеличения концентрации глюкоцереброзида в селезенке и других тканях ретикулоэндотелиальной системы, бывает повышено еще и содержание гематозида, и СДН, а также эфира жирной кислоты СМН. Что касается механизма, провоцирующего рост содержания глюкоцереброзида, то в 1965 г. Brady с соавт. доказали, что это зависит либо от дефицита, либо от понижения концентрации глюкоцереброзидазы. Далее, они провели эксперимент по измерению активности этого фермента в лейкоцитах, что впоследствии стало важнейшим техническим приемом при диагностике. Многие полагали, что накопление липидов возникает в результате распада эритроцитарных глобозидов в ткани селезенки, что и служит

источником дефекта. Однако, когда авторы проанализировали данные о липидозе в целом, то они пришли к выводу, что, по всей вероятности, накапливающиеся липиды в общем с самого начала содержались в этих органах в небольших количествах, поэтому отсюда и вытекает основной принцип. При измерении такой ферментативной активности удобно использовать производные Р-нитрофенила и 4-метилумбеллифенила, синтезированные в качестве субстрата. Однако, разумеется, всегда должны возникать сомнения, когда такие производные принимают за идентичные естественному субстрату расщепляющего фермента глюкоцереброзида.

Этот вопрос представляет собой проблему также вне связи с болезнью Гоше, поскольку все еще остается не ясным, выявляется ли при этом определенный изофермент в строгом смысле слова. В связи с этим вновь и вновь со всей серьезностью пересматриваются особенности субстрата в плане данного направления научных исследований.

6. Галактоцереброзидоз. Сульфацитоз

Хотя лейкодистрофия подразделяется на (1) форму Краббе, (2) форму Pelizäus — Merzbacher, (3) форму Schilder, (4) форму Canavan, (5) форму Scholz и т. д., по первой и пятой формам заболевания ведутся биохимические научные исследования в плане сфинголипидоза. При болезни Краббе, так называемой глобоидной лейкодистрофии, в белом веществе мозга обнаруживаются шаровидные клетки, содержащие липиды. Это наследственное нервное заболевание, которое начинается с 4~6-месячного возраста и заканчивается смертью к 2 годам. Химический анализ показывает исключительно низкое содержание галактоцереброзида и сульфатида в белом веществе мозга. В частности, Bachhawat с соавт. (1967), поскольку они первые обратили внимание на пониженную концентрацию сульфатидсульфофатидов, сделали сообщение о дефиците сульфатидсульфотрансферазы. Вместе с тем Suzuki с соавт. (1970) сделали предположение, что причиной данного заболевания является недостаточность β -галактозидазы, которая входит в систему расщепления и имеет особенность превращаться в галактоцереброзидазу.

(5) форма заболевания — болезнь Scholz, имеющая название «метахроматической лейкодистрофии» (MLD), является врожденным заболеванием, которое поражает

младенцев и сопровождается распространенным отсутствием серого вещества и белом веществе головного мозга и его атрофией. Больные гибнут, не достигнув 6-летнего возраста. В пораженной части выявляются шарообразные клетки, напоминающие спелое зерно, дающие положительную ШИК-реакцию и не окрашивающиеся суданом; в этих клетках отмечается метакромазия, при обработке толудиновым синим они окрашиваются в персиково-красный цвет. Задерживающиеся в это время в головном мозге и почках липиды, согласно сообщениям, сделанным независимо друг от друга Jatzkewitz и Austin в 1958 г., являются сульфатидами. В 1965 г. на основании работ Jatzkewitz с соавт. было показано, что причина возникновения метакроматической лейкодистрофии заключается в дефиците фермента, отщепляющего сульфат из сульфатидов в третьей позиции галактозы, т. е. в дефиците сульфатидосульфатазы. Для диагностики этого заболевания Austin с соавт. рекомендует широко использовать колориметрический метод определения сульфатазы в моче с использованием в качестве субстрата нитрокатехолсульфата. Применение этого метода дает возможность измерить активность фермента в амниотической жидкости и установить диагноз в пренатальном периоде. Кроме того, изучение возможности диагностировать гетероносительство позволяет использовать это во время генетических консультаций по поводу предстоящего брака.

в. Ганглиозидоз

Группа веществ, составляющих ганглиозид, представляет собой сложные гликолипиды, которые были так названы в связи с тем, что они в больших количествах содержатся в ткани серого вещества головного мозга, богатого ганглиозными клетками. Как это видно из табл. 5.1 (6), исходя из химической структуры, они могут быть подразделены на несколько разновидностей. Их химическая структура была определена приблизительно в 1962 г.; было обнаружено, что внутри молекулы содержится одна или пять позиций N-ацетилнейраминовой кислоты, которая при нагревании с орцином окрашивается в пурпурно-красный цвет. В головном мозге здорового человека, как известно, содержится шесть разновидностей ганглиозидов, причем особенно распространены четыре вида: G_{M1} , G_{D1a} , G_{D1b} , G_{T1} . Их наименования варьируют в зависимости от

имен исследователей, но мы воспользуемся наименованиями по Svennerholm. Среди заболеваний, относящихся к этой группе и наиболее известных с давних пор, а также хорошо изученных в биохимическом аспекте, является болезнь Тея—Сакса, при которой содержание G_{M2} , представляющего собой у здоровых меньший компонент головного мозга, превышает в 100 ~ 300 раз.

Болезнь Тея—Сакса, описанная английским офтальмологом Теем в 1881 г. (по наличию специфических вишнево-красных пятен на глазном дне), а также описанная американским неврологом Саксом в 1885 г. (на основании симптомов центральной нервной системы), представляет собой наследственное заболевание, которое возникает в возрасте 4 ~ 8 мес и заканчивается гибелью к 2-м годам. Группу заболеваний, аналогичных данному, называют амавротической семейной идиотией, причем, помимо формы Тея—Сакса, их классифицируют на несколько форм в зависимости от возраста: «поздняя детская форма» (форма Бильшовского—Янского, в возрасте от 1 ~ 5 лет, описана в 1913 г.); «юношеская форма» (форма Фогта—Шпильмейера, в возрасте от 5 ~ 10 лет, описана в 1905 г.); «поздняя или зрелого возраста» (в возрасте старше 20 лет, описана Куфсом в 1925 г.) и др.

Так или иначе, в эпоху, когда неврологи и патоморфологи захватили основные направления в научно-исследовательской работе, в наши дни, когда стало понятным, что эти заболевания вызваны определенными нарушениями в обмене веществ, называть болезнь Тея—Сакса ганглиозидом G_{M2} становится неточным. Данное заболевание наследуется по аутосомно-рецессивному типу и особенно часто встречается среди польских и немецких евреев. Согласно подсчетам в 1971 г., во всем мире должно было родиться на свет 200 ~ 300 больных. В Японии ежегодно регистрируется несколько случаев заболевания.

Согласно научным исследованиям последних лет, ганглиозидоз G_{M2} делится на три формы. Первая форма соответствует прежней форме Тея—Сакса, при которой в головном мозге повышена концентрация G_{M2} и асиало- G_{M2} , а во внутренних органах и в брюшной полости они не накапливаются. При второй форме заболевания, так называемой болезни Sandhoff, помимо увеличения концентрации G_{M2} и асиало- G_{M2} в головном мозге, в почках и других органах отмечается накопление глобозида I. При третьей форме (юношеская форма) G_{M2} скапливается только в

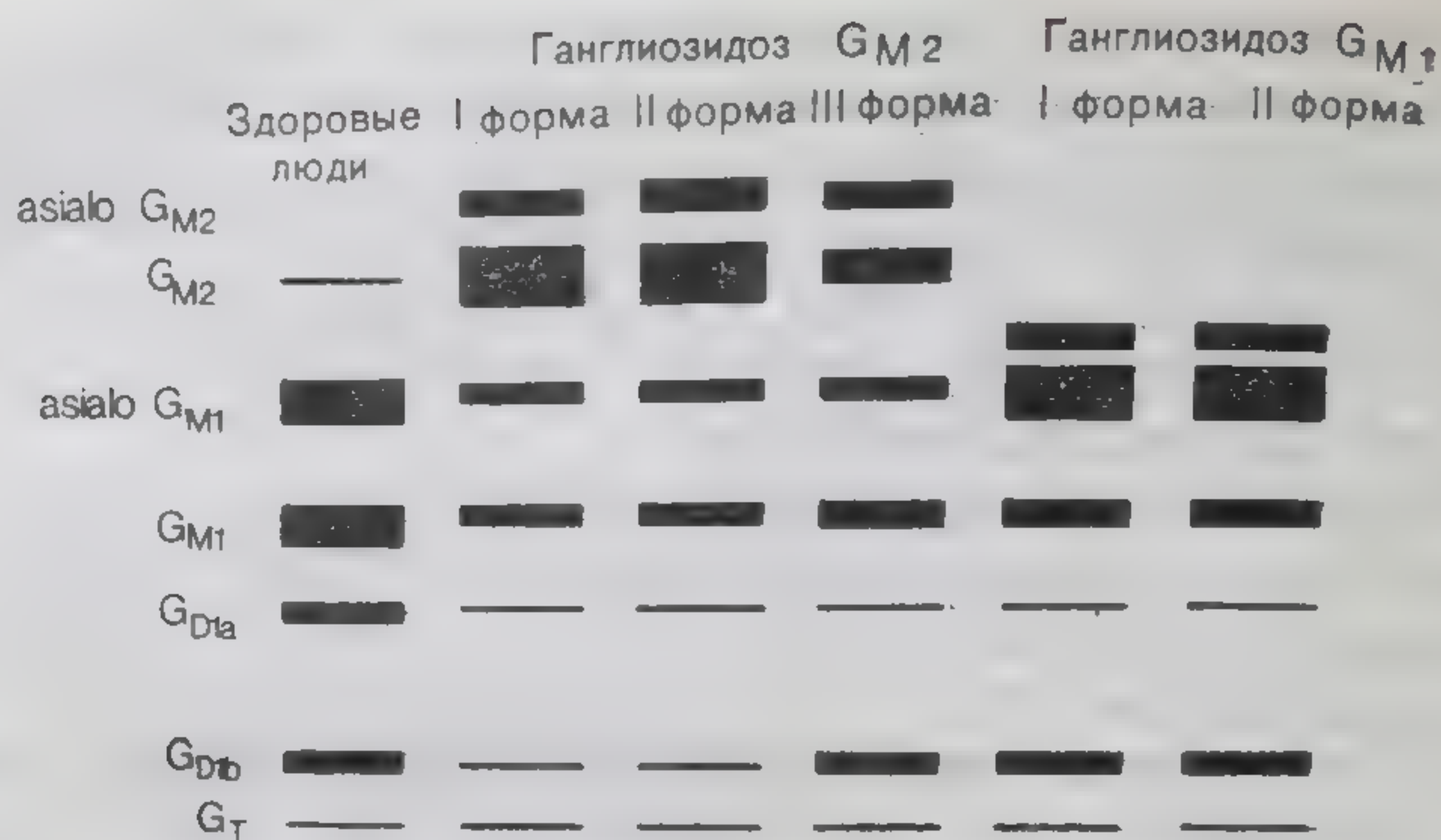


Рис. 5.4. Схема хроматограммы тонкого слоя ганглиозидов серого мозгового вещества, принадлежащих здоровым людям и больным разными формами ганглиозидоза (O'Brien, 1971).

головном мозге. В отличие от этой формы заболевания недавно был описан ганглиозидоз G_{M1} , при котором даже первая форма заболевания (поражающая весь организм) отличается не только накоплением по всему организму G_{M1} , но еще и накоплением во внутренних органах кератосульфата. Тогда как при второй форме (юношеская форма) накопление G_{M1} выявляется только в головном мозге, а кератосульфат можно выявить в моче (рис. 5.4).

Хотя уже было обнаружено, что причиной ганглиозидоза G_{M1} является дефицит β -галактозидазы, однако при ганглиозидозе G_{M2} измерение N-ацетилгалактозаминидазы не обнаруживало ее дефицита, поэтому причина заболевания в течение длительного периода оставалась проблематичной. За последние годы, когда при помощи хроматографии на колонках DEAE-целлюлозы, а также при помощи электрофокусирования и других методов научились разделять гексазаминидазу на два изофермента А и В, стало очевидным, что при болезни Тея—Сакса в головном мозге и других органах не хватает только одного изофермента А. (Компонент А — кислый, а компонент В — щелочной, поэтому изоэлектрическими точками будут соответственно 5,0 и 7,4.) Между тем при второй форме ганглиозидоза G_{M2} (форма Sandhoff) дефицитными являются оба компонента — компонент А и компонент В. При третьей же форме, как предполагается, частично недостает компонента А.

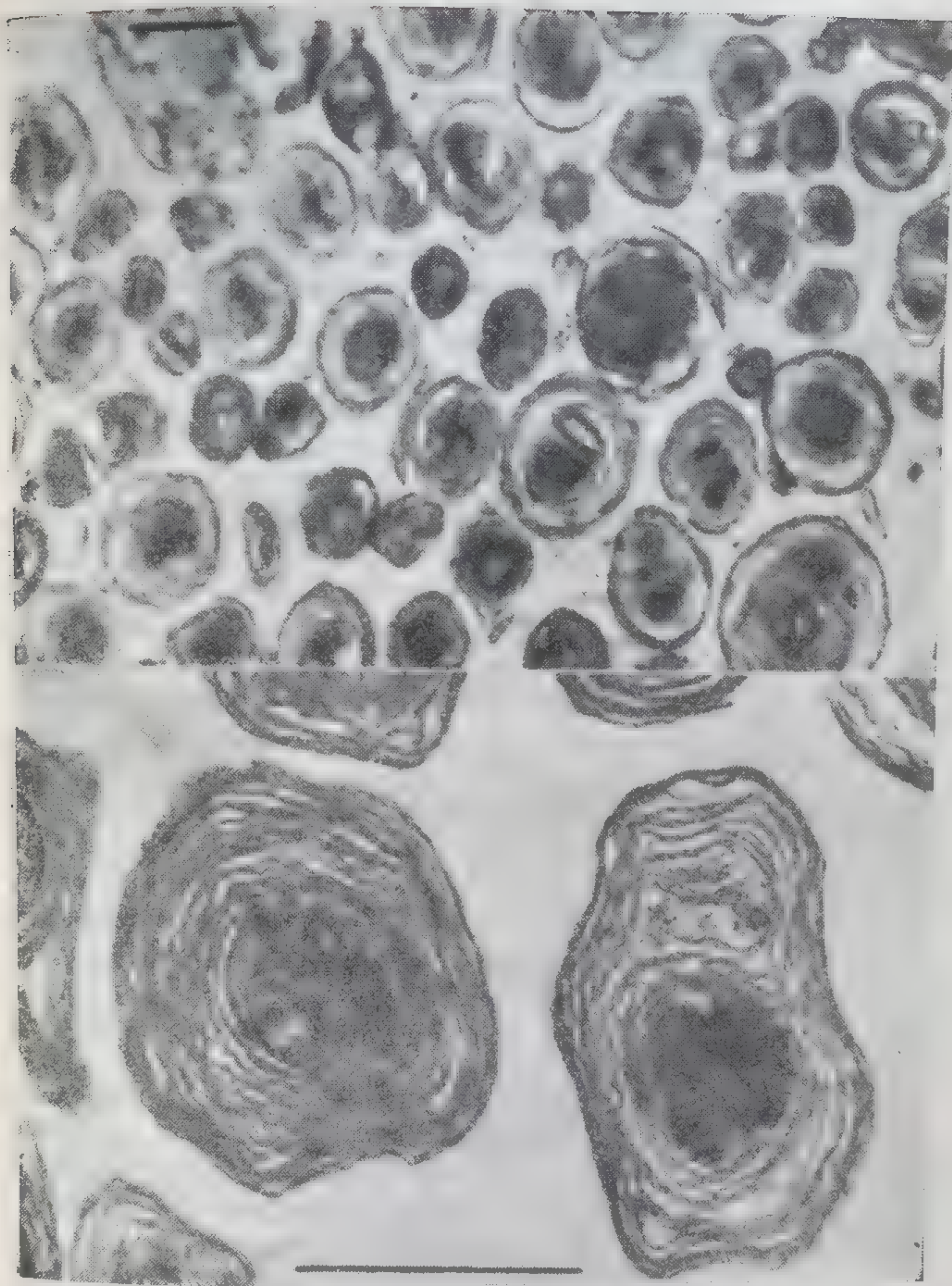


Рис. 5.5. Электронно-микроскопическое изображение МСВ, выделенного из мозга при S_{M2} -ганглиозидозе; верх: $\times 13\,000$; низ: $\times 37\,000$ (Судзуки Кунихико, Судзуки Иосиюки, Камо Симо 1969).

Кроме того, за последние годы в Японии у одной линии сиамских кошек был обнаружен пример накопления в головном мозге G_{M1} . При этом было выявлено, что причиной накопления является дефицит в головном мозге β -галакто-

зидазы. Такой липидоз у домашнего животного представлял бы чрезвычайную ценность для экспериментаторов; к сожалению, возможность эксперимента утрачена, так как хозяин подверг животное кастрации.

При таком ганглиозидозе, как описанный выше, пользуясь оптическим микроскопом, можно рассмотреть накопление внутри клеток кислых ШИК-положительных гранул а при помощи электронного микроскопа, как в этом можно убедиться на рис. 5.5, можно выявить «мембранные цитоплазматические тела (МСВ)», имеющие вид годичных колец. Вещества подобной структуры можно также изготовить, искусственно смешав эти липиды.

г. Церамидолигогексозидоз (болезнь Фабри)

В 1898 г. в сообщении дерматолога Fabry был описан больной, у которого были набухшие кровеносные сосуды, опухшие веки, альбуминурия, а в 1915 г. все эти симптомы были обобщены в одном заболевании, названном «angiokeratoma corporis diffusum». Позднее пришли к выводу, что это заболевание — скопление липидов во всем организме. Между тем в 1963 г. Sweeley с соавт. обнаружили в почках пациента накопление двух видов сфинголипидов — церамидтригексозида (СТН) и церамиддигалактозида (CDG). Миятакэ же, описавший в недавнем прошлом несколько случаев заболевания, зафиксированных в Японии, подверг разделению гликолипиды, извлеченные из почек, лимфатических желез и спинномозговых ганглиев больных, и изучил их распределение.

Что касается сущности данного заболевания, то Brady с соавт. обнаружили дефицит расщепляющего галактозу фермента с СТН-конца, причем дефицита β -галактозидазы отмечено не было, и в течение долгого времени это продолжало оставаться проблемой. В 1970 г. Kint подтвердил, что α -галактозидаза является дефицитной, после чего выяснилось, что конечная галактоза в составе химической структуры СТН по отношению к предшествующей галактозе представляет собой соединение $\alpha 1 \rightarrow 4$. Иида и Ямагава с соавт. (1971), основываясь на спектре ядерно-магнитного резонанса, также подтвердили существование α -соединения. Далее, Mares с соавт. утверждают, что, переливая больному человеку плазму крови здорового человека, можно добиться повышения уровня СТН в плазме крови больного, что можно использовать в качестве лечебной меры.

Последнее время, когда поступают сообщения об успешной трансплантации почки, реальность «терапии посредством замены ферментов» становится очередной проблемой.

д. Церамидлактозидоз

Недавно Dawson (1970) описал случай общекорпорального накопления у 3-летней чернокожей девочки лактозилцерамида. Однако, поскольку описан всего лишь один случай заболевания, проблема остается открытой.

е. Сфингомиелиноз (болезнь Ниманна—Пика)

При этом заболевании выявляется усиление функции ретикулоэндотелиальной системы, в частности гепатоспленомегалия; накопления сфингомиелина превышает его содержание у здорового человека в 2—30 раз. Crocker подразделил заболевание на четыре формы. Форма А поражает младенцев и кончается их гибелью в возрасте от 1 ~ 3 лет, часто встречается среди детей еврейской национальности и наряду с гепатоспленомегалией сопровождается нарушением центральной нервной системы. При форме В нервных нарушений не наблюдается, а при форме С гепатоспленомегалия не достигает тяжелой степени, но позднее начинают проявляться нарушения центральной нервной системы. Форма D встречается среди населения Новой Шотландии, однако накопление сфингомиелина у этих больных не так уже значительно. Brady с соавт. выяснили, что причиной данного заболевания является значительное снижение содержания сфингомиелиназы, которая расщепляет соединение церамида с фосфатом в составе сфингомиелина.

Кроме того, пользуясь для этого сфингомиелином с меченой ^{14}C холиновой фракцией в качестве субстрата, при диагностике целесообразно измерять недостаточность фермента в лейкоцитах больного.

5.2. НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ЖИРНЫХ КИСЛОТ

а. Болезнь накопления фитановой кислоты (heredopathia atactica polyneuritiformis, болезнь Рефсума)

Норвежский невропатолог Refsum в 1946 г. описал 27 случаев этой группы заболеваний. Заболевание начиналось в период с детского возраста до 30 лет и отлича-

лось медленным течением с локомоторной атаксией, сужением поля зрения, пигментным ретинитом. Таковы были основные симптомы этого наследственного заболевания. В 1963 г. Klenk и Kahlke обнаружили при данном заболевании повышенную концентрацию фитановой кислоты (3, 7, 11, 15-тетраметилпальмитиновой кислоты) в жирных кислотах триглицеридов и эфиров холестерина печени, почек и сыворотки крови. Эти специфические жирные кислоты, содержащие многочисленные разветвленные цепи, почти не встречаются у здоровых людей, поэтому источник их происхождения вызвал большие сомнения. Вскоре, однако, стало понятным, что они берут начало из спирта «phytol», образующегося из углеводов, формирующих молекулу хлорофилла. Это соединение входит в состав организма травоядных животных; следовательно, оно в небольших количествах содержится в молоке и сливочном масле. Если здоровый человек съест такие продукты, то они в результате обмена превратятся в конечном счете в CO_2 и H_2O , однако у людей, страдающих данным заболеванием, такая функция абсолютно отсутствует.

Фитановая кислота, как это видно из табл. 5.1 (8), хотя и содержит в β -цепи метиловое основание, с большим трудом подвергается β -окислению, но, претерпев одно α -окисление, превращается в пуристановую кислоту (2,6,10,14-тетраметилпентадекановая кислота) и только затем, подвергаясь β -окислению, проходит путь полного расщепления.

Стало очевидным, что у страдающих болезнью Рефсума (Refsum) отсутствует фермент, осуществляющий самый первый процесс α -окисления (Steinberg, Avigan, 1967).

Было установлено, что в пище европейца ежедневно содержится приблизительно 20—30 мг фитола и 50 мг фитановой кислоты. И поскольку при данном заболевании, как это выяснилось, накапливающиеся вещества экзогенны, то регулированием диеты можно добиться улучшения состояния больных.

Подобные примеры описаны в литературе.

6. Изовалериановая ацидурия

Изовалериановая кислота, относящаяся к той же категории жирных кислот (т. е. углеродных кислот, не содержащих циклических структур), по сравнению с фитановой кислотой значительно уступает ей по длине цепи. Танака

и Isselbacher, наблюдая у 5- и 3-летних брата и сестры кетоацидоз (приступы наблюдались раз в несколько недель), характерной особенностью которого было сонливое состояние (подобное болезненное состояние возникает в результате излишнего употребления в пищу белков и последующего общего отравления организма), заметили, что всю палату наполнял запах пота, напоминающий запах водяного клопа. Так как этот дурной запах близко напоминал запах короткоцепочных жирных кислот, ученые подвергли анализу короткоцепочечные жирные кислоты состава крови. При этом методом газораспределительной хроматографии и другими способами подтвердилось, что содержание изовалериановой кислоты в несколько сот раз превышает норму.

В промежутках между приступами болезни содержание изовалериановой кислоты падает до уровня, превышающего нормальный в 2~5 раз. Вместе с тем пероральное назначение лейцина здоровым людям почти не увеличивает содержания изовалериановой кислоты в крови, тогда как у больных ее концентрация увеличивается в 100 раз. Кроме того, в моче обнаруживается β -гидроксиизовалериановая кислота и N-изовалерилглицин, причем последний, очевидно, следует отнести к действию своеобразного обезвреживающего механизма. Предполагается, что сущность данного заболевания заключается в наследственной недостаточности CoA-дегидрогеназы изовалериановой кислоты.

5.3. НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА СТЕРИНОВ

а. Болезнь Волмана (Wolman)

Это заболевание описано Wolman в 1961 г., причем до настоящего времени имеются сообщения примерно о 8 случаях заболевания, основными симптомами которых были гепатоспленомегалия, склероз надпочечников, отставание в развитии, понос, анемия. Эти симптомы напоминают болезнь Ниманна—Пика. Вместе с тем некоторые случаи заболевания, которые ранее принимались за болезнь Ниманна—Пика, теперь рассматриваются как болезнь Wolman. Как описывается, накапливающиеся вещества распределяются в селезенке и печени. Это главным образом триглицерид и холестерин (в особенности, эфир), превышающие нормальную концентрацию приблизительно в

10 раз. Заболевание возникает в пределах 3 нед после рождения и заканчивается смертельным исходом в возрасте 3~5 мес. Однако сущность данного заболевания еще таит в себе много неясностей.

В здоровой печени имеется кислая липаза, обуславливающая гидролиз α -нафтилацетата и α -нафтилбутилата, поэтому при такой активации дело ограничивается лишь частичным торможением из-за действия диэтил-Р-нитрофенилфосфата (Е-600). Тогда как при болезни Wolman накапливающаяся в печени липаза полностью задерживается действием Е-600. Поэтому Patrick и Lake (1969, 1970) объясняют заболевание Wolman либо как дефицит кислой эстеразы, оказывающей противодействие Е-600, либо как чрезмерную чувствительность кислой липазы к Е-600.

5.4. НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ЛИПОПРОТЕИДОВ

Липиды, содержащиеся в плазме крови, обязательно образуют соединения с белками и существуют в форме так называемых липопротеидов. Однако соединение липидов с белками не является так называемым химическим соединением, поэтому, применяя метод экстрагирования органическим растворителем, который входит в спирты и т. д., можно выделить одни липиды, легко подвергнув их разделению. Липиды плазмы крови человека, как это показано в табл. 5.3, образуются главным образом из триглицерида, фосфолипидов, холестерина и его эфиров.

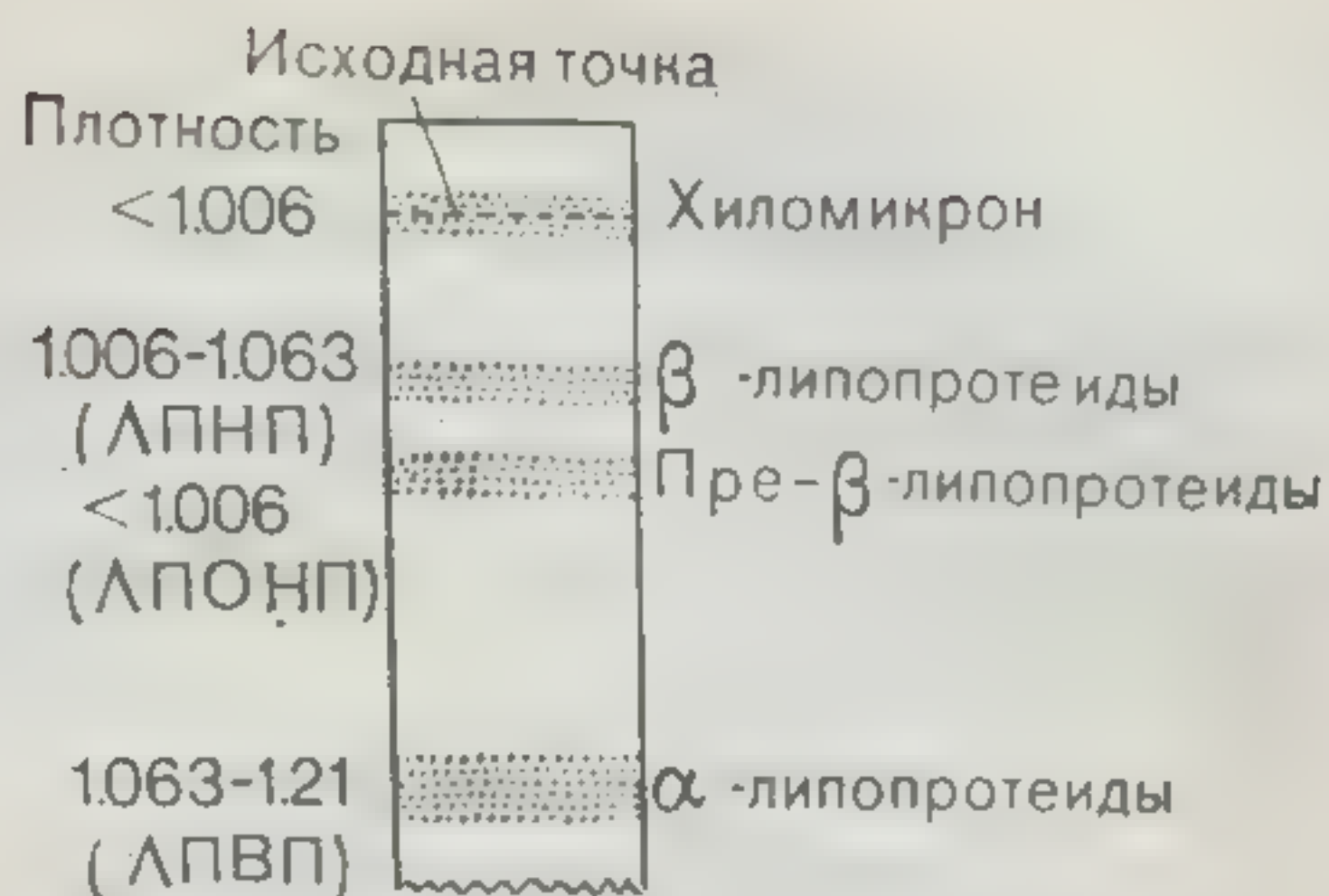
Таблица 5.3

Липиды плазмы крови человека

	мг/100 мл	
	среднее	в пределах
Общие липиды	570	360 ~ 820
Триглицериды	142	80 ~ 180
Общие фосфолипиды	215	120 ~ 390
Лецитин		50 ~ 200
Цефалин		50 ~ 130
Сфингомиеллин		15 ~ 35
Общий холестерин	200	107 ~ 320
Свободная форма	55	26 ~ 106
Свободные жирные кислоты	12	6 ~ 16

Рис. 5.6.

Электрофореграмма на фильтровальной бумаге липопротеидов плазмы крови человека.



Эти липиды содержатся в различных липопротеидах в различных пропорциях, что зависит от удельного веса липопротеидов. Липопротеиды плазмы крови (если их разделить при помощи электрофореза на фильтровальной бумаге) подразделяются на хиломикроны, β -липопротеиды, пре- β -липопротеиды, α -липопротеиды (рис. 5.6).

С другой стороны, при фракционировании липопротеидов ультрацентрифугированием можно подразделить их в зависимости от удельного веса (плотности), и они будут называться, как это показано в табл. 5.4, а именно: хиломикроны, липопротеиды с низкой плотностью, липопротеиды с высокой плотностью, альбумин, свободные жирные кислоты, причем липопротеиды с очень низкой плотностью соответствуют пре- β -липопротеидам на электрофорезе.

а. Заболевание, связанное с низким содержанием в крови α -липопротеидов (болезнь Танжера)

В 1961 г. Fredrickson с соавт. обнаружили пример заболевания, когда в плазме крови недостает липопротеидов высокой плотности, а в ретикулоэндотелиальной системе накапливается холестерин.

Эти изменения были отмечены у ребенка с о. Танжера группы Виргинских островов, причем при обследовании родственников выяснилось, что заболевание имеет семейный характер. Отмечалось увеличение и покраснение миндалин, а также увеличение лимфатических узлов печени и селезенки. Поскольку были отмечены следовые количества HDL, то это заболевание более уместно назвать гипо- α -липопротеинемией, чем не- α -липопротеинемией. При диагностировании (разделением фракции HDL ультрацентрифугированием с последующим анализом иммуноэлектрофорезом) было установлено, что содержание HDL чрезвычайно занижено. При этом формирование хиломи-

Таблица 5.4

Состав липопротеидов плазмы крови человека (исправленная репродукция по Olson и Vester, 1960)

Фракции	Происхождение	Плотность	Sf	Состав						
				белки (%)	общие липиды (%)	% по отношению к общим липидам				
						три- глице- риды	фосфо- липи- ды	эфиры холесте- рина	свободный холестерин	свободные жирные кислоты
Хиломикроны	Кишечник	<0,96	>400	1	99	88	8	3	1	—
Липопротеиды низкой плот- ности	Печень и киш- ки									
VLDL		0,96 ~ 1,006	20 ~ 400	7	93	56	20	15	8	1
LDL 1		1,006 ~ 1,019	12 ~ 20	11	89	29	26	34	9	1
LDL 2		1,019 ~ 1,063	2 ~ 12	21	79	13	28	48	10	1
Липопротеиды высокой плот- ности	Печень; кишки?									
HDL 1*		1,063	0 ~ 2							
HDL 2		1,063 ~ 1,125		33	67	16	43	31	10	—
HDL 3		1,125 ~ 1,210		57	43	13	46	29	6	6
Альбумин FFA	жировые ткани	>1,2810		99	1	0	0	0	0	100

LDL: фракции липопротеидов низкой плотности, HDL: фракции липопротеидов высокой плотности, VLDL: фракции липо-
протеидов очень низкой плотности

* данная фракция в количественном отношении не играет важной роли.

крона не терпит ущерба и выделение триглицерида из печени не встречает препятствий. В то же время на электрофорезе не выявляется пре- β -липопротеидов, видна лишь широкая β -полоса. Эти наблюдения подтвердили, что нормальные пре- β -липопротеиды содержат в себе α -липопротеиды. Помимо этого, описаны другие случаи заболевания в штатах Миссури и Кентукки.

б. Не- β -липопротеинемия (акантоцитоз)

Bassen и Kornzweig (1950) описали случай, когда у 18-летней девушки еврейской национальности были замечены измененная форма эритроцитов, аномалии в сетчатой оболочке глаза, нервные симптомы. Впоследствии появились описания еще 25 случаев этого же заболевания.

Самыми первоначальными симптомами болезни являются возникающие в младенчестве рвота и понос, затем высокая температура и жировой стул. Это заболевание называется акантоцитозом (болезнь шиповидных кровяных шариков) потому, что эритроциты имеют форму плоского золотого сахара (akanthocytosis).

Содержание холестерина в плазме крови падает ниже 25 мг/100 мл, причем β -липопротеиды не выявляются ни методом электрофореза, ни иммунохимически. Общий липохолестерин плазмы крови, а равно и фосфолипиды обнаруживают чрезвычайно низкие показатели, а поскольку и хиломикроны и пре- β -липопротеиды не формируются, в плазме крови почти не содержится и триглицерида. При вскрытии в слизистой оболочке кишечника и печени обнаруживаются явные накопления жиров.

в. Заболевание, связанное с недостаточностью лецитин-холестеринацилтрансферазы (дефицит LCAT)

LCAT — это сокращенное лецитин-холестеринацилтрансфераза, фермент, который содержится в большом количестве в плазме крови и переносит на холестерин две ацетильные группы жирных кислот. Этот фермент, осуществляющий каталитическую реакцию, формирующую эфир холестерина, обладает характерной способностью легко соединяться с HDL. За последние годы, согласно сообщениям Norum и Gjone с соавт. (1967 ~ 68), описан случай врожденного дефицита этого фермента у трех сестер. Клинически наблюдается протеинурия, анемия, помутнение ро-

говицы, гиперлипемия; в костном мозге и почках можно обнаружить пенистые жировые клетки. Хотя содержание холестерина в плазме крови либо нормальное, либо незначительно увеличенное, эфирные формы значительно понижены и не достигают 10%. Содержание лецитина повышено, в то время как показатель лизолецитина понижен; содержание триглицерида повышено, тогда как α -липопротеид почти вовсе отсутствует. И наоборот, показатели холестерина и лецитина в эритроцитах повышены при пониженном содержании цефалина и сфингомиелина. Среди жирных кислот, включающихся в состав фосфолипидов, содержание линолевой кислоты увеличено, а содержание арахидоновой кислоты понижено.

г. Болезни, связанные с высоким содержанием липопротеидов в крови (гиперлипемии)

В 1965 г. Fredrickson с соавт. подверг сыворотку крови электрофорезу на фильтровальной бумаге с применением буфера, содержащего 1%-ный бычий сывороточный альбумин и, исходя из распределения липопротеидов, подразделил гиперлипемии на пять форм (см. рис. 5.6).

1) Семейная гиперлипемия, связанная с высоким содержанием хиломикронов

Поскольку хиломикроны с трудом удаляются из круга кровообращения, то их концентрация в крови имеет склонность к значительному повышению. Это объясняется дефицитом липазы липопротеидов. Показатели пре- β -липопротеидов также повышены, в то время как содержание α -липопротеидов и β -липопротеидов понижено. Это происходит из-за высокого содержания жиров в пище, поэтому целесообразно было бы ограничивать количество входящих в рацион жиров; вместе с тем, если пища будет содержать высокую концентрацию углеводов, то содержание пре- β -липопротеидов, подвергаясь синтезу в печени, все равно будет увеличиваться. В последние годы с целью лечения проводится следующий эксперимент: назначают триглицерид со средней длиной цепи (МСТ), который, впитываясь через кишечный тракт, проходит воротную вену и поступает в печень. Это преследует цель предупредить увеличение содержания хиломикронов.

Данное заболевание встречается редко.

3) Семейная гиперлипемия — это заболевание то-
нции семейных липо-
концентрации общего х-
явно увеличено содержа-
то обнаруживаются ксе-
профилактики принято
холестерина и насыще-
ления еще недостаточ-

3) Семейная гиперлипемия и пре-

Поскольку при данн-
содержание β -липопро-
теинами наблюдается х-
ются ксантоматозные
тия. Так как данная о-
точным поглощением
тела и употреблять жи-
и жирными кислотам

4) Семейная гиперлипемия

Это заболевание то-
ем сахаров и характ-
 β -липопротеидов и
содержание холесте-
проведении теста с
отклонения. Иногда
ется сахарным диабе-
как при 3-й форме.

5) Семейная гиперлипемия

Поскольку заболе-
делью, при котором
микронов, так и
наблюдается хило-
держания триглиц-
наблюдаются

2) Семейная гиперхолестеринемия (семейная гипер- β -липопротеинемия)

Это заболевание — довольно распространенное в числе других семейных липемий. Оно характерно повышением концентрации общего холестерина в крови; в том числе явно увеличено содержание β -липопротеида. В тканях часто обнаруживаются ксантомы и рисовидные тельца. Мерой профилактики принято считать ограничение в рационе холестерина и насыщенных жиров, однако сущность заболевания еще недостаточно раскрыта.

3) Семейная гипер- β - и пре- β -липопротеинемия

Поскольку при данном заболевании бывает увеличено содержание β -липопротеидов и пре- β -липопротеидов, временами наблюдается хилезная сыворотка крови. Отмечаются ксантоматозные бляшки и рисоподобные затвердения. Так как данная форма заболевания связана с избыточным поглощением сахаров, рекомендуется сбавить вес тела и употреблять жирную пищу, богатую ненасыщенными жирными кислотами и бедную холестерином.

4) Семейная гипер-пре- β -липопротеинемия

Это заболевание тоже вызвано избыточным поглощением сахаров и характерно увеличением концентрации пре- β -липопротеидов и эндогенных триглицеридов, причем содержание холестерина остается в пределах нормы. При проведении теста сахарной нагрузки обнаруживаются отклонения. Иногда данное заболевание еще сопровождается сахарным диабетом. Меры профилактики такие же, как при 3-й форме.

5) Семейная гиперхиломикронемия и гиперпре- β -липопротеинемия

Поскольку заболевание характеризуется сложной моделью, при которой увеличены концентрации как хиломикронов, так и пре- β -липопротеидов, то в плазме крови наблюдается хилезная взвесь, отмечается повышение содержания триглицеридов и холестерина, а также зачастую наблюдаются ксантоматозные бляшки. А если при данной

форме заболевания имеется избыток сахаров и пре- β -липопротеиды присутствуют в избыточном количестве, то и содержание хиломикронов также увеличивается. Следовательно, мерой профилактики обязательно нужно считать ограничение приема с пищей жиров и углеводов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Bernsohn J. a. H. J. Grossman (eds.)* 1971 *Lipid Storage Diseases*.— Academic Press, New York.
Lee R. 1968 *Proc. Nat. Acad. Sci.* 61: 484.
O'Brien J. S. et al. 1971 *Feder Proc.* 30: 956.
Schettler G. (ed.) 1967 *Lipids and Lipidoses*. — Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
Stanbury J. B., J. B. Wyngaarden a. D. S. Fredrickson (eds.) 1972 *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. McGraw-Hill, New York.
Suzuki K., K. Suzuki a. S. Kamoshita 1969. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 28: 25—1.
Такэтоми Тамоцу 1972 *Липидоз. Метаболизм* 9 (2) 43.
Танака Кэй 1968 *Врожденные аномалии обмена липидов. Найка* 22 (4) 856.
Volk B. W. a. S. M. Aronson (eds.) 1972 *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders*. — Plenum Press, New York.
Ямага Тамио 1971 *Аномалии и обмене липидов. Синлэйгаку то-пикку*. — Т. 1, № 1, Токио Игакуся.
Ямагава Тамио, Ямамото Акира 1970 *Липидоз. Ниппон ринсё дайся гаккай кироку VII, Накаяма сётэн*.

Уже не о
ственные ос
в возникнов
до наших де
насчитываю
диабет зани
ных врожде
рится в дру
но невелик
да как час
процентов.
вания явля
аппарата и
является р
ного аллел
моментов,
генов и ок
История
тывает мн
ном «diab
ходит от
ет обильн
ние (poly
дифферен
бетом, ко
ского го
«mellitus
слащива
при кото

Глава VI

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ

6.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЕГО ХАРАКТЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ

а. Что представляет собой сахарный диабет?

Уже не остается никаких сомнений в том, что наследственные особенности организма играют важнейшую роль в возникновении сахарного диабета. Среди обнаруженных до наших дней врожденных аномалий обмена веществ, уже насчитывающих около двухсот разновидностей, сахарный диабет занимает особое место. Прежде всего, частота обычных врожденных аномалий метаболизма, о которых говорится в других главах данной книги, в общем сравнительно невелика ($10^{-4} \sim 10^{-6}$) в рамках одной популяции, тогда как частота сахарного диабета достигает нескольких процентов. Еще одной характерной особенностью заболевания является то, что при всей сложности генетического аппарата и механизма возникновения заболевания оно не является результатом простого наследования, обусловленного аллельными генами одного локуса, а зависит от ряда моментов, в которых переплетается воздействие многих генов и окружающей среды.

История сахарного диабета (*diabetes mellitus*) насчитывает много лет, уже до нашей эры пользовались термином «*diabetes*». Как утверждают, слово «*diabetes*» происходит от греческого «*diabete*» (сифон); короче, это означает обильное питье (*polydypsia*) и обильное мочеиспускание (*polyuria*). Позднее и вплоть до XVIII века с целью дифференцирования этого заболевания с несахарным диабетом, который объясняется неполадками антидиуретического гормона, к слову «диабет» присоединили слово «*mellitus*» (сладкий). Несмотря на то что вещество, подслащивающее мочу и кровь, — это глюкоза, заболевание, при котором увеличивается ее содержание в моче и крови,

называется сахарным диабетом. В XIX веке в результате проведенных на собаках экспериментов, основанных на вытяжке из поджелудочной железы, Mering и Minkowsky (1889) обнаружили, что при сахарном диабете в панкреатических островках Лангерганса происходят атрофические изменения. В 1921 г., когда Banting и Best добились успеха в экстрагировании инсулина, впервые прояснилось, что основную роль в возникновении сахарного диабета играет инсулин.

В наши дни сахарный диабет определяется следующей формулировкой: «Аномальное состояние в обмене разных веществ в организме, в первую очередь сахара, вызванное абсолютной или относительной недостаточностью инсулина». Вместе с тем, хотя заболевание приобрело такое общее определение, фактически в клинической практике бывает довольно сложно разграничить нормальное состояние от аномалий, поэтому предусматриваются самые различные критерии в диагностике. До сего времени в качестве основного (и единственного) критерия в диагностике сахарного диабета рассматривался показатель концентрации сахара в крови. Однако, как об этом повествуется в разделе 3, показатель концентрации сахара в крови наряду с кровяным давлением, показателем умственных способностей, показателем концентрации мочевой кислоты (см. главу VII) и пр. представляет собой лишь количественный признак. Следовательно, зафиксировав пороговую точку уровня показателя концентрации сахара в крови (которая, естественно, непрерывно изменяется), разграничить норму от аномалии, прибегая к закону «все или ничего», невозможно. В будущем, помимо кривой реакции инсулина в крови и показателя концентрации сахара в крови в результате жирового и прочего обмена, по-видимому, будут рассматриваться и другие факторы.

В те годы, когда инсулин еще не был обнаружен, большинство людей, страдавших тяжелой формой диабета, обусловленной нарушением сахарного обмена, были обречены на смерть в результате ацидоза и дегидратации, возникавших как следствие накопления в организме кетовых тел (ацетона, β -оксиацетата). Кроме того, туберкулез, заражение крови и другие тяжелые инфекционные заболевания служили серьезной причиной смертности. За последние годы смертность от таких сопутствующих заболеваний сократилась. По мере увеличения продолжительности жизни больных людей и причины, ведущие к смертельному

исходу. ста
излияний в
недостаточн
явление мож
означает та
диабет, не
сохраняется
раздел 3, г).

б. Эпидем

За послед
леваний, ка
доз, аутоимм
судить по а
из них не п
том. Вычисл
больших по
поэтому на
делами про
ции популя
можно пред
японцев: эт
дованию, п
сима среди
выявлено 18
а имевших
залось 5%
средних пи
с отклонени
(Кавамото
Возникн
ни зависит
значительн
состава на
О росте
том говори
лении пок
популяции

Поскол
не разгад
фикации

исходу, стали в основном сосредотачиваться вокруг кровоизлияний в мозг, почечной недостаточности, сердечной недостаточности и прочих сосудистых заболеваний. Такое явление можно объяснить прогрессом в медицине, но это означает также, что группа генов, вызывающая сахарный диабет, не подвергается давлению естественного отбора и сохраняется и поддерживается внутри популяции (см. раздел 3, г).

б. Эпидемиология сахарного диабета и классификация

За последние годы в Японии возросло число таких заболеваний, как подагра, злокачественные опухоли, амилоидоз, аутоиммунные и прочие заболевания. Однако, если судить по абсолютным цифрам этих заболеваний, ни одно из них не превышает числа заболеваний сахарным диабетом. Вычисление реальной частоты заболеваний в пределах больших популяций сопряжено с различными трудностями, поэтому наши познания фактически ограничиваются пределами процента заболеваемости внутри маленькой фракции популяций. Обобщая эти результаты, ориентировочно можно предопределить коэффициент заболеваемости среди японцев: это приблизительно около 2%. Согласно обследованию, проведенном в г. Вадамари префектуры Кагосима среди 5635 человек в возрасте старше 20 лет, было выявлено 18,3% с положительной реакцией сахара в моче; а имевших отклонения теста с глюкозной нагрузкой оказалось 5%; среди 3204 человек учащихся начальных и средних школ с положительной реакцией сахара в моче и с отклонениями в сахарной толерантности оказалось 0,43% (Кавамото и др., 1972).

Возникновение сахарного диабета в значительной степени зависит от возраста, поэтому процент заболеваемости значительно колеблется в зависимости от возрастного состава населения, служащего объектом обследования.

О росте коэффициента заболеваемости сахарным диабетом говорится в разделе 2, б и в разделе 3, г, а о распределении показателя концентрации сахара в крови внутри популяций — в разделе 2, в.

Классификация сахарного диабета

Поскольку сущность сахарного диабета еще полностью не разгадана, то все еще не существует и четкой классификации данного заболевания, в связи с чем до сих пор

используются различные способы его классификации. По этиологии заболевания диабетиков можно подразделить на две категории: 1) лиц, у которых инсулин отсутствует вообще; 2) лиц, у которых нет нормального количества инсулина, а если его искусственно увеличить, то эффект его ослабевает из-за действия веществ-антагонистов и веществ-интерферентов. Вместе с тем (как об этом еще будет говориться в разделе о наследственности), хотя и предполагается, что так называемые диабетические факторы непрерывно распределяются внутри популяции, точно так же как нарушения показателей концентрации сахара в крови, тем не менее между перечисленными двумя категориями больных имеется переходная форма, — следовательно, четко разграничить их невозможно.

Когда заболевание возникает по неясной причине (в основном, когда причина имеет генетический характер), то его называют первичным сахарным диабетом. Сахарный диабет, связанный с эндокринными аномалиями (избыточность адреналина, избыточность кортикостероидов, гиперфункция гипофиза, избыточность тироксина и пр.), а также с атрофическими изменениями в панкреатических островках Лангерганса (панкреатит, абсцедирующий панкреатит, гемохроматоз), и другие виды сахарного диабета с ясно выраженной этиологией называют вторичным сахарным диабетом. Иногда сахарный диабет подразделяют на «островковый» и «внеостровковый», что тоже близко к приведенной классификации (кроме того, между ними существует взаимодействие). Так или иначе, такое упрощенное деление неудовлетворительно.

а) Клиническая классификация

Хотя, как об этом уже говорилось выше, в вопросе классификации сахарного диабета еще остается много нерешенных проблем, в условиях клиники удобно подразделять диабет на юношескую (ювенильную) форму и взрослую форму (табл. 6.1).

б) Классификация по стадиям заболевания

- (1) Потенциальный диабет (предиабет)
- (2) Скрытый диабет (латентный химический диабет)
- (3) Субклинический диабет (химический диабет, асимптоматический диабет)

Таблица 6.1

Основные моменты для распознавания юношеской формы сахарного диабета и взрослой формы сахарного диабета

	Юношеская форма	Взрослая форма
Возраст начала заболевания	В большинстве заболевают до 30 лет (иногда в зрелом возрасте)	В большинстве заболевают после 30 лет (иногда в молодом возрасте)
Тип конституции	Худощавые	В большинстве случаев полные
Форма заболевания	Вследствие острого начала заболевания беспокойны, подвержены кетозу	Благодаря медленно-му течению заболевания спокойны, кетоз встречается редко
Реакция на лечение	Инсулин эффективен, сульфамиды — неэффективны	Инсулин реактивен, сульфамиды — эффективны

(4) Клинический диабет (явный диабет)

Под пунктом (4) подразумеваются пациенты с субъективными симптомами или типичные пациенты с высокой концентрацией сахара в крови натощак; под пунктом (3) — пациенты, диагностированные в результате химического обследования под нагрузкой глюкозы (GTT) и т. д.; пациентов, относящихся к пункту (2), можно выявить в условиях особого стресса или пробы под нагрузкой кортизола-глюкозы (CGTT), пробы на сытый желудок и пр. В отличие от перечисленных категорий установлено, что потенциальный диабет обнаруживается у лиц, имеющих наследственное предрасположение. Например, когда сахарным диабетом болен один из близнецов; или больны оба родителя; или болен один из родителей и брат или сестра; или когда со стороны одного из здоровых родителей страдают сахарным диабетом дядя, тетя или двоюродные братья и сестры, а также у женщин, родивших ребенка весом более 4,5 кг. Короче говоря, нагрузка наследственности довольно значительна. Следовательно, стремление создать общее представление о риске возникновения сахарного диабета среди групп здоровых людей содержит основной смысл научных исследований как в генетическом, так и в клиническом аспектах.

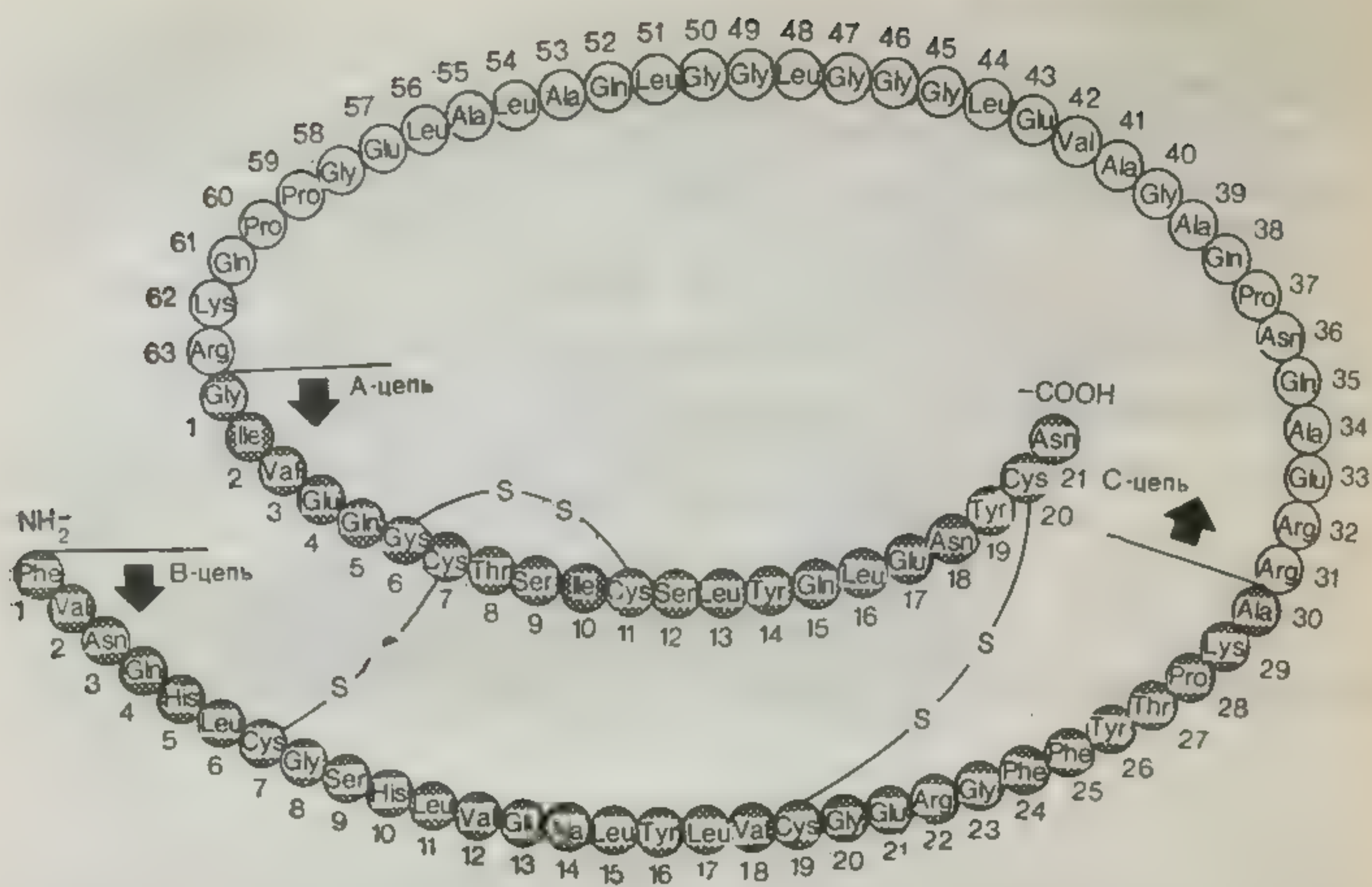


Рис. 6.1. Распределение аминокислот проинсулина у свиней (Chance et al., 1968). Черные фракции С-цепи (соединительный пептид) соответствуют инсулину.

в) Сахарный диабет и инсулин

Хотя возникновение сахарного диабета связано с переплетением целого ряда различных факторов, теперь уже не приходится сомневаться в том, что инсулин играет среди них самую главную роль. И не будет преувеличением сказать, что историю открытия инсулина сочтут за страницу истории в борьбе человечества с заболеваниями в целом (см. «Рассказ об инсулине» Г. Рэншелла с соавт. в переводе Ниномия).

1) Структура инсулина и проинсулина

Как показано на рис. 6.1, инсулин является пептидом и образуется в результате пропуска в цепи А·В·С проинсулина — цепи С (соединительный пептид). Мономер инсулина, образующийся из 51 остатка аминокислоты (21 остаток в цепи А, 30 — в цепи В), имеет молекулярный вес около 6000. Вместе с тем, поскольку он присутствует в растворе в виде стабильных димеров, тримеров и тетрамеров, то фактически высчитанный молекулярный вес его составляет от 12 000 до 48 000. Первичная структура (последовательность аминокислот) была установлена для

инсулина коров, свиней, крыс, овец, морских свинок, кур, пеламид, восточных тунцов и других животных. И хотя разнородность перечисленных видов животных совершенно очевидна, это не имеет существенного отражения в активности и составе инсулина.

2) Введение в механизм воздействия инсулина

С момента обнаружения инсулина и до наших дней люди потратили поистине огромные усилия для распознавания сущности его воздействия на понижение содержания сахара в крови. В результате этих усилий, как это иллюстрируется в табл. 6.2, стали понятны самые различные аспек-

Таблица 6.2

Различные аспекты воздействия инсулина

-
1. Ускорение мембранной проницаемости сахара (в мышцах)
 2. Снижение концентрации циклического АМР (в печени, в жировой ткани)
 3. Ускорение синтеза гликогена (в печени, и мышцах)
 4. Торможение распада гликогена (в печени)
 5. Торможение глюконеогенеза (в печени)
 6. Ускорение поглощения глюкозы (в жировой ткани)
 7. Ускорение синтеза белков (в мышцах, и жировой ткани)
 8. Ускорение активного переноса аминокислот внутри клетки (в мышцах)
 9. Увеличение внутриклеточного переноса калия (в мышцах)
 10. Ускорение синтеза липидов, торможение липолиза (в жировой ткани)
 11. Действие ферментов
 - Торможение индукции ключевого фермента системы глюконеогенеза (в печени)
 - Ускорение индукции ключевого фермента системы распада глюкозы (в печени)
 - Ускорение превращения гликогенсинтетазы в активированную форму (в печени, в мышцах)
 - Замедление превращения гликогенфосфорилазы в активированную форму (в печени)
 - Активирование гексокиназы II (в мышцах, в жировой ткани)
-

ты воздействия инсулина. Между тем сам по себе тот факт, что всего лишь один полипептид обладает столькими многообразными функциями воздействия (с общетеоретической точки зрения химии гормонов) — явление, которое даже трудно представить. Попытка дать унифицированное объяснение всех этих функций инсулина те-

рией о его влиянии на повышение проницаемости клеточных мембран вначале была подвергнута сомнению. В недавнем прошлом в процессе распада и синтеза гликогена выяснилось, что циклический АМР имеет непосредственное отношение к его ферментному ряду. И поскольку инсулин содействует понижению содержания циклического АМР в жировой ткани и в печени, появилась мысль логически подвести к этому моменту многие другие виды воздействия инсулина. И хотя, с другой стороны, обнаружилось много противоречий, ощущается, что решение проблемы перенесено на будущее.

6.2. САХАРНЫЙ ДИАБЕТ И НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ

а. Наследственный характер сахарного диабета

Поскольку приходится наблюдать, что сахарный диабет часто встречается в одной семье, достаточно давно сложилось предположение о прямом отношении к данному заболеванию наследственного фактора. За последние годы, во-первых, исходя из частотности заболеваний среди родственников по крови и, во-вторых, на основе изучения коэффициентов совпадений у близнецов появилась полная уверенность в том, что патогенез сахарного диабета определяется воздействием генов (Joslin, 1959; Neel, 1965).

Что касается коэффициента заболеваемости сахарным диабетом по родословной линии (хотя здесь могут быть

Таблица 6.3
Коэффициент совпадений по сахарному диабету у близнецов

	Монозиготные		Дизиготные	
	количество групп	коэффициент совпадений (в %)	количество групп	коэффициент совпадений (в %)
Verschuer	63	84,0	70	37,0
Bergh	46	65,2	120	22,5
Joslin	19	65,0	29	22,0
Harvald, Hauge	16	37,5	66	3,0
Япония (Мияо, Мимура, Курино, Цудзи)	6	83,3	5	40,0
Итого . . .	150	70,6	290	21,7

допущены значительные погрешности в подсчетах и зависимости от популяции, служившей объектом научных исследований, а также от метода диагностики), то он в основном достигает 20—30%. Тогда как в обычной популяции (причем популяции, не обремененной семейной нагрузкой) диабет определяется приблизительно в 10 раз реже.

В табл. 6.3 собраны результаты, полученные разными авторами при исследовании близнецов. Хотя возраст в период обследования, равно как и результаты, в зависимости от метода определения имеют значительные разрывы, все же коэффициент совпадения заболеваемости у монозиготных близнецов по сравнению с тем же коэффициентом у дизиготных близнецов явно выше.

6. Наследственные формы сахарного диабета

Как об этом свидетельствует история, рецессивную, доминантную и другие теории наследования неизбежно пытались объяснить при помощи генетической теории об единичном гене. Хотя до настоящего времени появлялись многочисленные сообщения о родословных, иллюстрирующие, как казалось на первый взгляд, доминантный тип наследования, результаты анализа накопленных материалов о родословной свидетельствуют скорее о рецессивном типе их наследования. Кроме того, случаи заболевания сахарным диабетом в молодом возрасте чаще имеют форму рецессивного наследования, тогда как случаи заболевания в престарелом возрасте имеют тенденцию обнаруживать доминантную форму наследования. Как бы то ни было, пользуясь обычными представлениями о наследственности, невозможно дать этим явлениям удовлетворительное объяснение. В действительности же и процессе практической диагностики и лечения сахарного диабета, помимо доминантной формы, проявляющейся в результате вертикальных связей, так называемых «родители—дети», в жизни часто встречаются спорадические случаи. Разумеется, что спорадические случаи заболевания можно наблюдать и при рецессивном наследовании, однако они довольно часто наблюдаются и при полигенном наследовании. Предполагают [см. рис. 6.5 (б)], что заболевает индивид, имеющий более 5 из заглавных А, В, С при причастности генов к трем локусам. В таком случае вероятность рождения больного ребенка от нормальных родителей генотипа АаВвСс составляет 7/64. Если предположить, что из-за

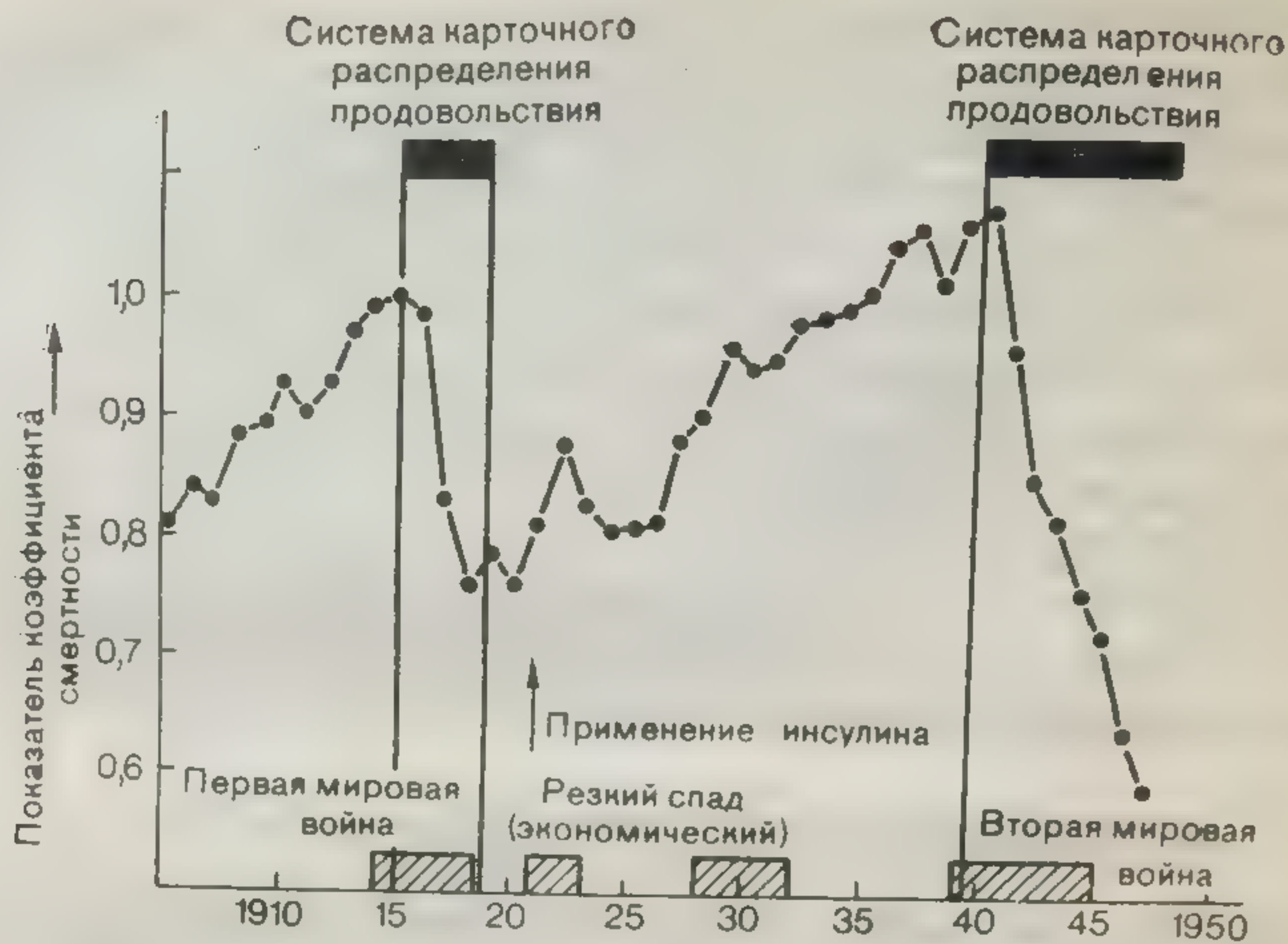


Рис. 6.2. Изменения в показателе смертности от сахарного диабета в г. Уэльсе Великобритании (Himsworth, 1949).

ухудшения условий окружающей среды и по другим причинам заболевает более 4 человек, то вероятность составит 22/64. Далее, если сахарным диабетом страдают оба из родителей, то с обычной рецессивностью должны заболеть 100% детей, а с доминантностью — 75%; в действительности же заболеваемость не превышает 15~20%. Поскольку возрастной фактор имеет огромное значение при заболевании сахарным диабетом, если из предосторожности учесть и это обстоятельство, то все-таки прогнозируемый коэффициент заболеваемости среди детей, у которых сахарным диабетом больны оба родителя, не превысит 50%.

Далее, и это имеет чрезвычайно важное значение, наблюдается, что условия окружающей среды оказывают весьма существенное влияние на возникновение заболевания. В Японии во время второй мировой войны наблюдалось резкое снижение числа больных сахарным диабетом, тогда как после окончания войны, вместе с улучшением положения с продуктами питания, число больных возросло. За последние же годы показатели заболеваемости сахарным диабетом в Японии приближаются к соответствующим показателям в Европе и США. Эти тенденции, как показано на рис. 6.2, реально свидетельствуют о сдвигах

в коэффициенте смертности от сахарного диабета в Англии в связи с режимом ограничения в снабжении продуктами питания в военное время. В качестве фактора, провоцирующего начало заболевания сахарным диабетом, наиболее проблемным считается избыточное употребление белков и жиров, даже по сравнению с избыточным употреблением сахаров. Помимо характера питания, стрессы (например, психические травмы, инфекции), а равно и употребление медикаментов (кортикотропинов, гипотензивных, мочегонных и других средств), оказывают не меньшее влияние на возникновение заболевания.

Об основных эндокринных факторах — надпочечниках, гипофизе, щитовидной железе и др. — говорилось в разделе о классификации сахарного диабета.

Таким образом, обобщая несколько описанных проблемных моментов, делаем вывод, что многие факторы причастны к возникновению сахарного диабета и в первую очередь, несомненно, так называемая полигенная система (см. раздел 3,6). Об этом также свидетельствует факт длительных отклонений в показателе концентрации сахара в крови и в так называемом нормальном его распределении.

в. Распределение концентраций сахара в крови

Хотя уровень концентрации сахара в крови не может полностью отражать патологического состояния больного сахарным диабетом, однако до настоящего времени этот показатель (в качестве одного из важнейших результатов обследования) служил определяющим средством диагностики. Тем не менее, помимо сахара в крови, для установления диагноза необходимо учитывать самые различные данные, как-то: состояние иммунореактивного инсулина в крови, содержание сахара в моче, состояние жирового и ацетонового обмена, а также другие показатели состояния эндокринной системы. Между тем фактически основания для диагноза определяются временными изменениями показателя концентрации сахара в крови при нагрузке глюкозой (кривая сахарной толерантности). Среди данных этой кривой учитывается типичный показатель концентрации сахара в крови натощак.

Распределение частоты показателя концентрации сахара в крови натощак в обычной популяции (популяция выбрана случайно, без специального отбора), как это иллюстрируется на рис. 6.3, приблизительно принимает вид

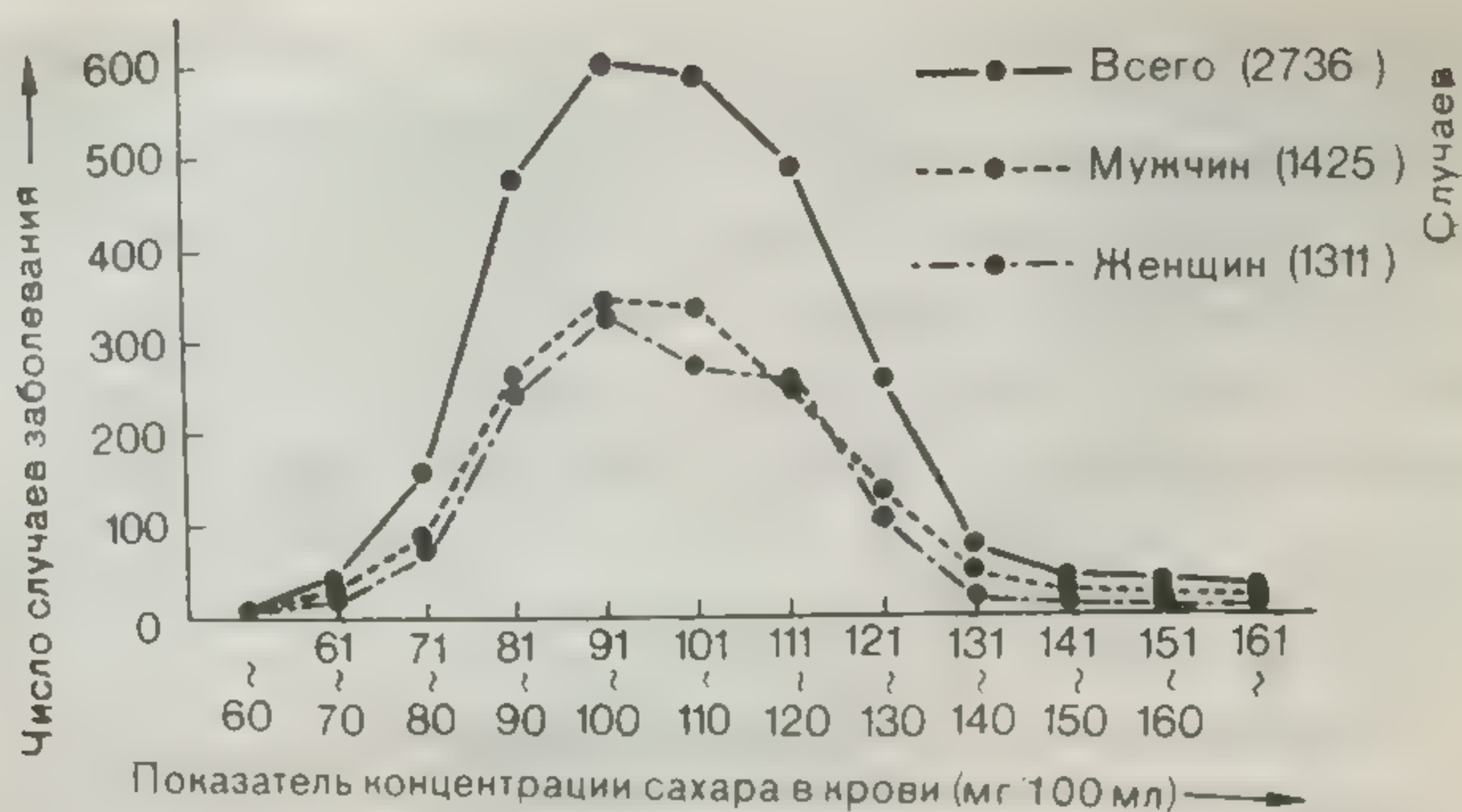


Рис. 6.3. Частотное распределение показателя концентрации сахара в крови натошак (Мимура).

нормального распределения. Это свидетельствует о том, что показатели концентрации сахара в крови точно так же, как показатели кровяного давления или концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови (глава 7), показатели умственных способностей, роста, веса и пр., могут быть выражены определенными единицами (например, мг/дл) и, таким образом, подобно всем другим показателям имеют количественное выражение.

6.3. ГЕНЕТИКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ОТЛИЧИТЕЛЬНЫХ ПРИЗНАКОВ

а. Биохимические признаки непрерывной изменчивости

Обычно для обозначения показателей при измерении тела человека используют такие единицы меры и веса, как сантиметр, грамм, миллилитр. Обозначенные такими единицами особенности человеческого тела (признаки) называют количественными признаками. Признаки, которые устанавливаются на основании биохимических способов и выражаются количественно, как, например, показатели концентрации сахара в крови, показатель холестерина, показатель мочевой кислоты, показатели активности различных ферментов, называются количественными признаками. И наоборот, в случае определения качественных признаков между такими двумя критериями, как (+) и (—), не существует переходных моментов, поэтому, как часто приходится наблюдать, следуют закону «все или

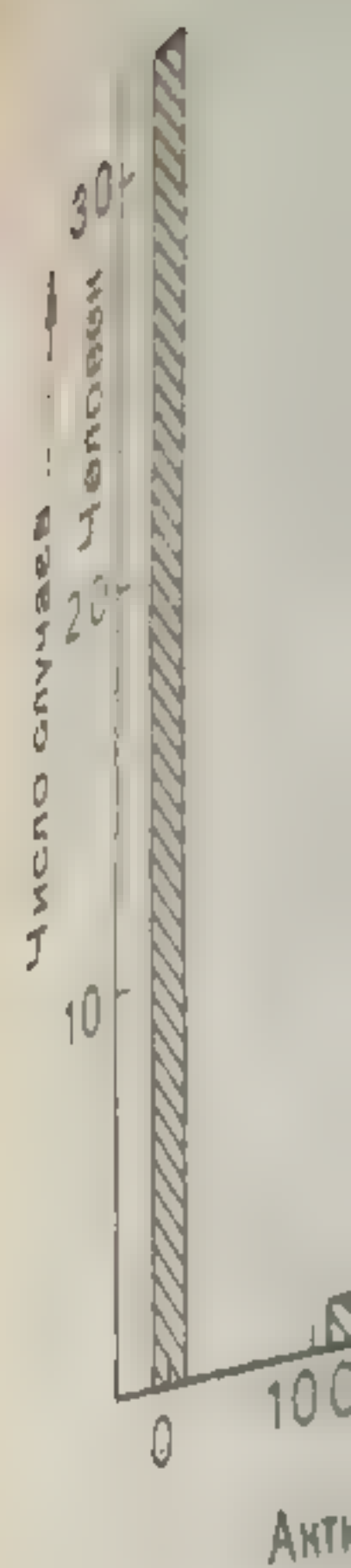


Рис. 6.4. Семейное при ака... зывающе... мального... ников в... ние.

ничего». Зато биохимическим... ной последов... ных признаков... или «нет откл... ми часто можн... ные совпадени... Хотя колич... всего обознач... однако предп... рифмы, квадра... обозначения... предусмотрет... этому может... стей. Цвет ку... ком для гру... издавна исп... ских реакци... ками. Кроме то... что они изм... но последо... кривая час...



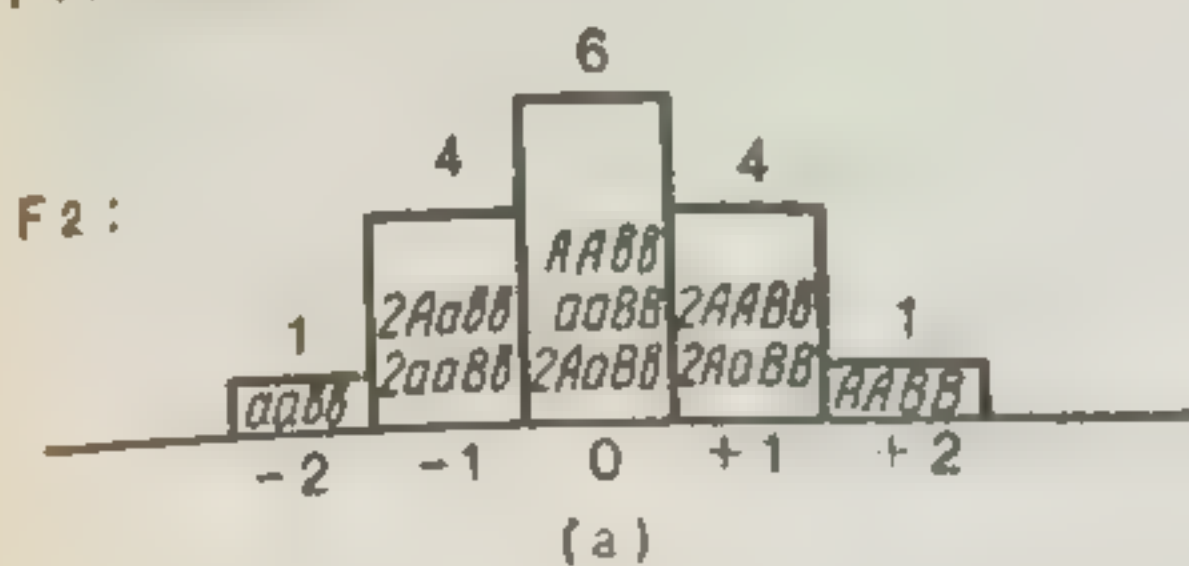
Рис. 6.4. Семейное распределение активности галактазы в крови при акаталаземии (Кохара 1962). Хотя частота гена, вызывающего аномалии, значительно ниже частоты нормального гена, однако при сравнении кровных родственников вначале обнаруживается трехпиковое распределение.

ничего». Зато в определении отличительных признаков биохимическими методами не может быть такой абсолютной непоследовательности (как в определении качественных признаков), как, например, «имеются отклонения» или «нет отклонений». Напротив, между двумя критериями часто можно проследить и переходные стадии, и частичные совпадения.

Хотя количественные отличительные признаки чаще всего обозначаются указанными единицами меры и веса, однако предпочтительно превращать эти значения в логарифмы, квадраты чисел и квадратные корни. В случае обозначения в балльной системе имеется возможность предусмотреть непрерывную изменчивость. Иллюстрацией этому может служить показатель умственных способностей. Цвет кожи человека также может служить признаком для грубого определения стадии заболевания, однако издавна использовали результаты различных биохимических реакций, которые служили количественными признаками.

Кроме того, количественные признаки, несмотря на то что они измеряются единицами меры и веса, необязательно последовательны. Как показано на примере рис. 6.4, кривая частотного распределения признаков, расположен-

P.AABB x aabb
F₁: AaBb



F₁: AaBbCc

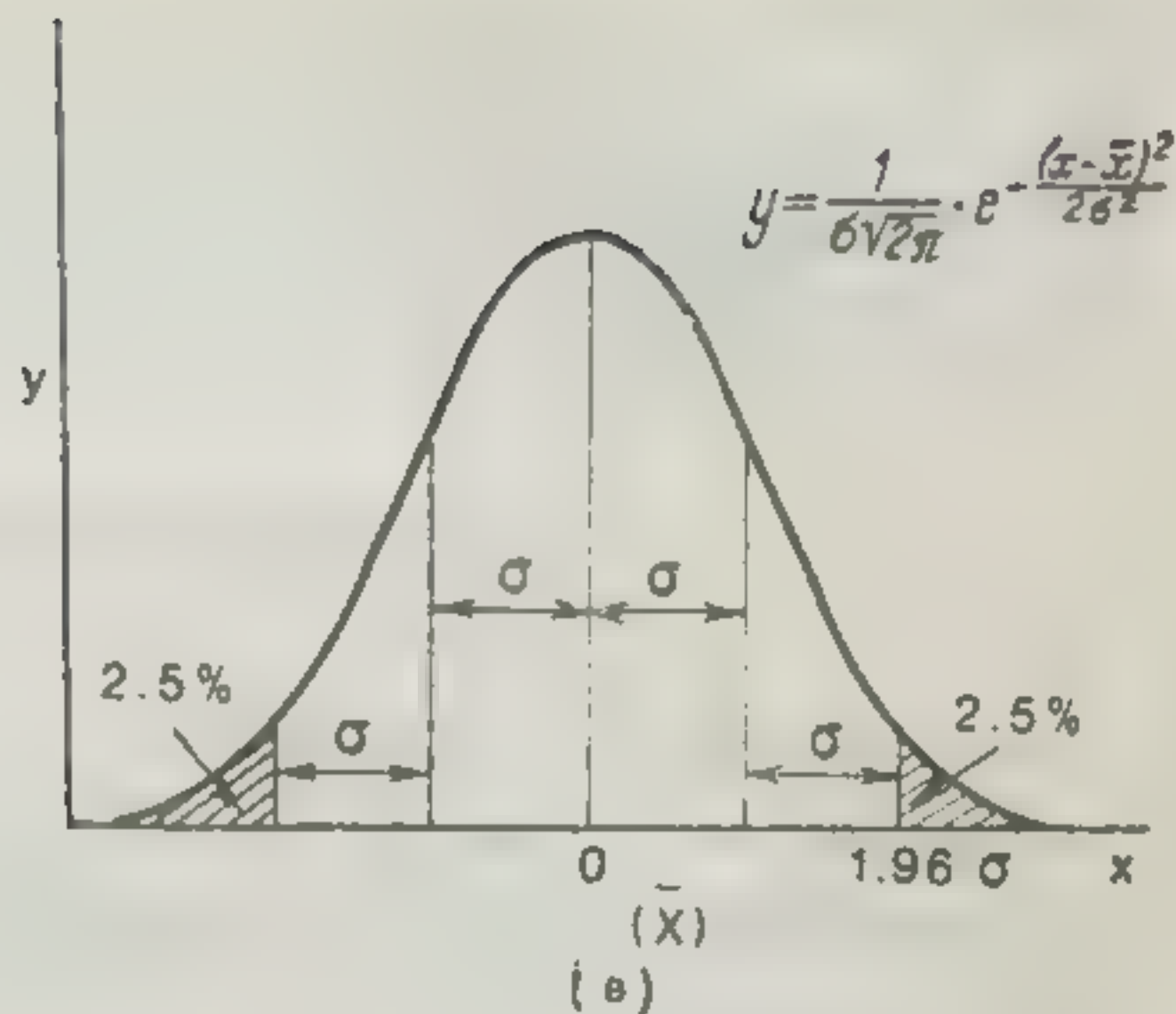
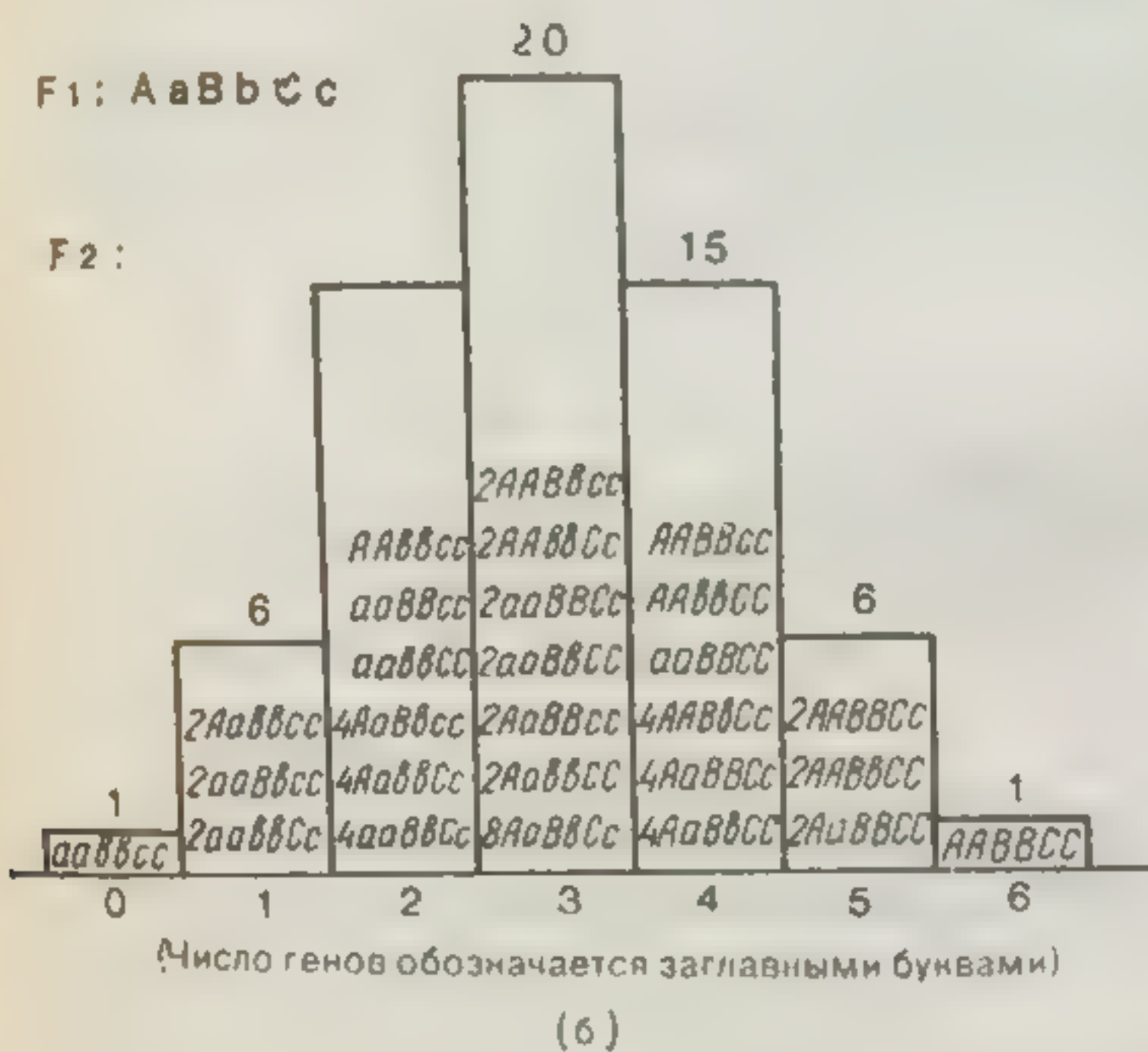


Рис. 6.5.

(а) — частотность на каждой ступени при числе локусов полимерных генов — 2 (А·В действует ■ направлении ускорения, а·b действует ■ направлении торможения. Между А и а, В и b отсутствуют доминантно-рецессивные взаимосвязи, а Аа обладает эффектом между АА и аа); (б) — частотность на каждой ступени при числе локусов полимерных генов — 3 [взаимозависимость между А и а идентичная с (а)]; (в) — нормальная кривая.

$$q^2 + \frac{2n(2n-1)(2n-2)}{3!} p^{2n-3} \cdot q^3 + \dots + q^n$$

Короче говоря, кривая частоты принимает форму нормального распределения [рис. 6.5(в)]. Особенностью нормального распределения является то, что средний показатель становится исходной точкой (0) на поверхности оси x, причем внутренняя часть поверхности на расстоянии приблизительно 2σ от исходной точки составляет 95%, а внешняя сторона поверхности — 5%.

Полимерных генов очень много, и хотя сила их влияния — каждого в отдельности — незначительна, они действуют сообща, взаимно дополняя друг друга. Причем такую обобщенную систему, проявляющую себя в качестве суммы признаков, называют полигенной системой (Mather, 1949).

Характерной особенностью полигенной системы является то, что каждый отдельный ген очень слаб, поэтому легко поддается влиянию среды, а также воздействию других главных генов. Показатель умственных способностей представляет собой одну из разновидностей полигенной системы, однако аномалия всего лишь в одном из локусов зачастую может повлечь за собой сни-

жение интеллекта. Главных генов, которые могут подействовать на подобное снижение интеллекта, фактически можно насчитать свыше 50 разновидностей. При сахарном диабете подобные ситуации вполне вероятны.

в. Коэффициент наследуемости

Среди биохимических признаков, начиная с показателя концентрации сахара в крови и показателя мочевой кислоты, можно выделить много количественных показателей, причем в том числе довольно значительную часть, очевидно, занимают показатели, зависящие от полигенной системы. Эти признаки невозможно применить в методах анализа, основанных на законах Менделя. Это происходит потому, что на современном уровне науки почти невозможно уловить действие генов, относящихся к полигенной системе, разграничив их влияние по одному в отдельности. Однако можно вычислить соотношение (наследуемость, коэффициент наследуемости: h^2), которое приходится на последственную изменчивость в пределах отклонений показателя концентрации сахара в крови в рамках целой популяции.

Изменчивость количественных признаков в целой популяции включает: (1) изменчивость G , которая является результатом обобщенного генетического воздействия полигенной системы, (2) изменчивость D , происходящую в результате доминантно-рецессивных взаимосвязей, (3) изменчивость E , вызванную влиянием окружающей среды, (4) прочие виды изменчивости. Поскольку масштабы изменчивости выявляются разбросом, то они представляют:

$$V_P = V_G + V_D + V_E$$

$$h^2 = \frac{V_G}{V_P} \text{ (коэффициент наследования в узком смысле)}$$

$$h^2 = \frac{V_G + V_D}{V_P} \text{ (коэффициент наследования в широком смысле)}$$

В варианте с человеком, когда в отличие от животных невозможно проводить экспериментальное спаривание, отсутствует также возможность измерить разброс в результате влияния окружающей среды с использованием чистой линии. Следовательно, получается, что наследуемость предположительно исчисляется на основании корреляционных

коэффициент наследуемости
показатель умственного развития
показатель концентрации сахара в крови

$$h^2 = 2r_{PO} \text{ (коэффициент наследуемости)}$$

$$r_{PO} = \frac{1}{2} \cdot \frac{V_G}{V_P}$$

$$h^2 = \frac{V_G + V_D}{V_P} = 4$$

Между тем фактически генов имеет место происходит между бывает и абсолютно пример, интеллект у ребенка), — эти показатели содержатся в табл. 6.4 сделана полагается, что 1—10% окружающей среды.

Коэффициент наследуемости

Признак
Показатель умственного развития
Показатель концентрации сахара в крови (натощак)
Давление крови
Концентрация сахара в крови

соотношений показателей измерений между родителями и детьми, между братьями и близнецами. Если принять за коэффициент корреляции между одним родителем и ребенком r_{po} , а соотношение корреляции между братьями обозначить r_{oo} , то получится:

$$r_{po} = \frac{1}{2} \cdot \frac{V_G}{V_P} = \frac{1}{2} h^2$$

$$h^2 = 2r_{po} \text{ (коэффициент наследования в узком смысле)}$$

$$r_{oo} = \frac{1}{2} \cdot \frac{V_G}{V_P} + \frac{1}{4} \cdot \frac{V_D}{V_P} = \frac{1}{4} \cdot \frac{V_G + (V_G + V_D)}{V_P}$$

$$h^2 = \frac{V_G + V_D}{V_P} = 4r_{oo} - 2r_{po} \text{ (коэффициент наследования в широком смысле)}$$

Между тем фактически, поскольку между каждым из генов имеет место взаимодействие или взаимодействие происходит между генами и окружающей средой, то не бывает и абсолютно независимо действующих генов (например, интеллект родителей влияет на окружающую среду ребенка), — значит необходимо учитывать, что эти показатели содержат соответствующие погрешности. В табл. 6.4 сделана попытка обобщенно рассмотреть предполагаемый в настоящее время порядок наследования. Получается, что $1-h^2$ показывает степень влияния окружающей среды.

Таблица 6.4

Коэффициент наследования количественных отличительных признаков

Признаки	От узкого до широкого влияния наследственности	Авторы сообщений
Показатель умственного развития	0,52~0,67	Оцуки
Рост	0,655~0,767	Фурусё
Показатель концентрации сахара в крови (патоцук)	0,45~0,60	Мимура
Давление крови	0,48~0,64	Мияо
Концентрация мочевой кислоты	0,29~0,34	French с соавт.

г. Наследование предрасположения к заболеваниям — теория порога заболевания

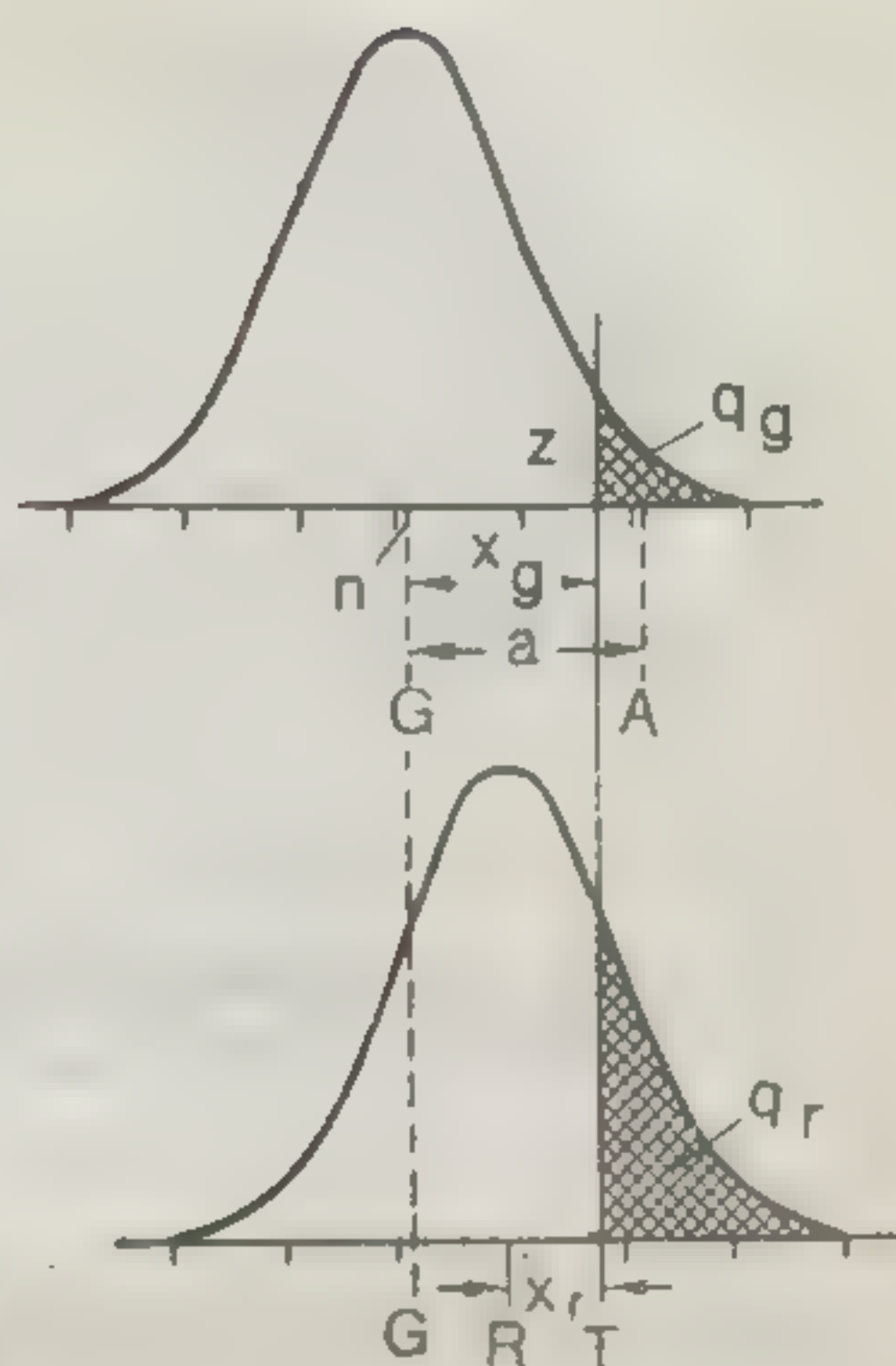
Поскольку показатель концентрации сахара в крови и показатель кровяного давления являются признаками нормального распределения, то если мы разделим кривую их распределения на определенные отсчетные участки или точки отсчета и станем определять высокую концентрацию сахара в крови или гипертонию по показателям, которые выходят за пределы этих точек отсчета, то мы допустим много оплошностей. Следовательно, при сахарном диабете, как уже отмечалось в разделе 2,в, в процессе диагностики принимаются во внимание очень многие данные. Значит, определение так называемого патологического или нормального «порога заболевания» переплетается с многочисленными факторами, поэтому в этом все еще существует много неразрешенных проблем.

Carter (1961) и Falconer (1965) построили гипотезу о так называемых основных признаках склонности к некоторым заболеваниям (подверженность заболеваниям), а также об отношении этой склонности к полигенной системе на основании непрерывной изменчивости, обнаруживающей нормальное распределение аналогично описанным выше показателям концентрации сахара в крови. Они полагали, что если такая подверженность заболеваниям оказалась бы ниже определенных пороговых границ, то данный индивид был бы здоров и, наоборот, если бы она превышала эти границы, то он заболел бы. Короче говоря, в конечном счете, «болен или здоров» — явление абсолютно дискретное, вместе с тем основной характер этого явления заключается в непрерывном распределении. Следовательно можно предполагать, что, используя статистическую обработку, возможно предопределить коэффициент наследуемости.

Falconer (1965), опираясь на эту мысль, построил гипотезу о коэффициенте наследования таких заболеваний, как язва желудка и двенадцатиперстной кишки, а также почечнокаменная болезнь и др., которые, как предполагается, зависят от полигенной системы [(рис. 6.6, 6.7). Для детального ознакомления см. «Клиническая генетика» (сост. Иноуэ, Янагаса, с. 413)]. Эта попытка, не считая теоретического подтверждения понятия о предрасположенности к заболеваниям, представляет еще и исторический смысл и открывает много возможностей для будущего, не-



6.6



6.7

Рис. 6.6. Две популяции, отличающиеся по средним цифрам заболеваемости, а также группы отдельных индивидуумов (Falconer, 1965).

Рис. 6.7. Сравнение определенных границ порога заболеваемости (Т) в обычной средней популяции (верхний чертеж) и в группах близких родственников заболевших (Falconer, 1965).

G — средняя заболеваемость в обычной популяции; A — средняя заболеваемость в обычной популяции; R — средняя подверженность заболеванию среди близких родственников; q — коэффициент заболеваемости (соотношение заболевших индивидуумов, превысивших границы порога); x — отклонение от границ порога средней подверженности заболеванию (отклонение от нормы); z — высота ординат граничных точек порога; a — средняя отклонения (z/q) заболевшего индивида от средней величины в популяции; n — средняя отклонения [$z/(1-q)$] здорового индивида от средней величины в популяции; ■ — обычная популяция; ■ — близкие родственники.

смотря на отсутствие конкретных критериев и на множество связанных с этим недостатков.

За последние годы предметом общественного внимания являются разного рода аутоиммунные заболевания, в первую очередь системная красная волчанка, а также злокачественные опухоли, ставшие основными объектами аналитических исследований. На рис. 6.6 изображены популяции I (верхняя) и II (нижняя), отличающиеся друг от друга границами порога заболеваемости. В I популяции вследствие ухудшения условий окружающей среды границы порога заболеваемости переместились к внутренней стороне, поэтому, пожалуй, следует предположить, что она превращается во II популяцию. Явное увеличение за последние годы таких заболеваний, как сахарный диабет,

подагра, гипертония и пр., можно рассматривать с этой точки зрения. Кроме того, вполне возможно, что аналогичный механизм срабатывает и при таких заболеваниях, как злокачественные опухоли и коллагенозы.

6.4. ГЕН САХАРНОГО ДИАБЕТА И ЭВОЛЮЦИЯ ЧЕЛОВЕКА

В те годы, когда голод нередко приносил разные бедствия, ген сахарного диабета был редким явлением и не представлял угрозы. Несомненно, все мы обладаем многочисленными факторами, которые повышают содержание сахара в крови, а в то же время мы почти не располагаем факторами, понижающими концентрацию сахара в крови, не считая инсулина. По всей вероятности, в процессе эволюции человека его пища редко отличалась стабильностью и обилием. В данное время в развитых странах положение резко изменилось. В этих странах в будущем не только предполагаются специфические изменения в области питания, но, очевидно, повысится и предрасположение к сахарному диабету. К тому же большая часть больных сахарным диабетом, не считая детей, в период до возникновения заболевания обладает довольно высоким процентом плодовитости; кроме того, после заболевания благодаря лечению в состоянии сохранять способность к деторождению (бурно растущий генотип: Neel, 1962). Это означает, что ген сахарного диабета не поддается легкому отсеиванию в результате естественного отбора и имеет тенденцию накапливаться внутри популяции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Carter C. O. 1961 The inheritance of congenital pyloric stenosis. — Brit. Med. Bull. 17: 251—313.
- Chance R. E. et al. 1968 Porcine proinsulin: characterization and amino acid sequence. — Science 161: 165—170.
- Falconer D. S. 1965. The inheritance of liability to certain diseases, estimated from the incidence among relatives. — Ann. Human Genet., 29: 51—76.
- Joslin E. P. et al. 1959. The treatment of diabetes mellitus. — Lea & Febiger, Philadelphia.
- Кавамото Такахиса и др. 1972 Иммунологические исследования сахарного диабета в г. Вадамари на о. Окиноэрабу (Третье сообщение). Тонёбё 15 (приложение): 183—183.
- Mather K. (в переводе Кихара, Кодзима, Мацумото) 1959, 1969 Статистическая генетика. Иванами сётэн, Токио.

Мицумура Горо 1971 Наследственность сахарного диабета. О сахарном диабете. Нанкодо, Токио.

Neel J. V. 1962 Diabetes Mellitus: A "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? — Am. J. Human Genet. 14: 353—362.

Neel J. V. et al. 1965. Diabetes Mellitus. In: Genetics and the epidemiology of chronic diseases. U. S. PHS. Publication 1163: 105—132.

Stanbury J. B., J. B. Wyngaarden a. D. S. Fredrickson (eds.) 1972 The metabolic basis of inherited disease. McGraw-Hill Co., New York.

Wrenshall G. A. et al. (В переводе Ниномия Рикую) 1962 Об инсулине. Иванами сётэн, Токио.

Янагасэ Тосиюки 1968 Патологические признаки полимерии. Клиническая генетика (Составители Иноуэ Эйdzи, Янагасэ Тосиюки). Асакура Сётэн, Токио.

Глава VII

ВРОЖДЕННЫЕ АНОМАЛИИ ОБМЕНА НУКЛЕИНОВЫХ И ДРУГИХ КИСЛОТ

В наши дни число так называемых врожденных аномалий обмена веществ значительно увеличилось как по своим формам, так и по стадиям заболеваний. В том числе большая их часть основывается на количественных и качественных аномалиях ферментов и обусловлена понижением активности ферментов или же их дефицитом. В результате не происходит должного формирования веществ или возникают препятствия на пути расщепления и экскреции веществ, что ведет к накоплению вредных соединений в организме. Кроме того, еще имеются аномалии обмена веществ, которые бывают вызваны изменениями проницаемости мембран, так называемые аномалии транспорта. Однако за последние годы эти аномалии поддаются объяснению (на основе изменений активности пермеазы).

Между тем еще существуют аномалии обмена веществ, вызванные дефицитом других белков, помимо ферментов, как, например, частично анальбуминемия, атрансферринемия.

Объем данной главы не разрешает рассмотреть здесь все эти аномалии метаболизма или же, напротив, имеется опасение, что это повлечет за собой отрывочное и многословное изложение. Поэтому основное внимание здесь будет сосредоточено на метаболизме нуклеиновых кислот. Здесь же по возможности кратко будет описано все, что касается нарушений обмена металлов и пигментов, а также дефицита белковых компонентов плазмы крови. Что же касается деталей, отсылаем читателей к списку литературы.

7.1. АНОМАЛИИ МЕТАБОЛИЗМА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК) — как генетический материал — представляют собой вещества, которые лежат в основе всех

жизненных и наследственных явлений живых существ. Рост и размножение живых существ, а также деление клеток зависят от воспроизведения ДНК, а ферменты, ведающие этой реакцией, ДНК-полимеразы, естественно, должны играть самую важную роль. Вместе с тем у человека все эти системы синтеза пока еще полностью не разгаданы; кроме того, еще до конца не изучено все, что относится к аномалиям нуклеаз и фосфатаз, участвующих в циклах распада нуклеиновых кислот.

И наоборот, все, что касается обмена пурииннуклеотидов, входящих в состав нуклеиновой кислоты, сравнительно хорошо исследовано. Процессы их синтеза и цикл распада в целом показаны на рис. 7.1. Так как эта система имеет непосредственное отношение к подагре и гиперурикемии, число заболеваний которыми в Японии за последние годы быстро увеличивается, она привлекает к себе внимание многих биохимиков и клиницистов.

а. Синтез пурииннуклеотидов

Хотя пурииннуклеотиды также образуются в результате происходящего в организме расщепления нуклеиновых кислот, из пуриновых оснований, находящихся в составе пищи, самыми важными путями синтеза являются два: так называемый *de novo* биосинтез и путь восстановления.

Краткое представление об этом дается на рис. 7.1.

Этот цикл синтеза прежде всего начинается с фосфорибозилпирофосфата (PRPP), который образован из рибозы-5-фосфата. Этот фосфорибозилпирофосфат не просто превращается в субстрат ферментной реакции (рис. 7.1: реакция ферментов 1, 2, 3), а благодаря регулированию скорости ферментной реакции превращается в один из компонентов механизма обратной связи сложного пуринового обмена. Кроме того, эта реакция подавляется благодаря AMP·GMP, являющимися конечными продуктами, иными словами, поддается контролю отрицательной обратной связи. Вслед за этим пирролиновая кислота, которая связана в I позиции с углеродом фосфорибозилпирофосфата, в результате каталитического воздействия амидотрансферазы (PRPP-ATase) замещается амидным основанием глутамина. Если к этому амидному основанию присоединить глицин, далее использовать в качестве материала глутамин и аспарагиновую кислоту, то можно последовательно полу-

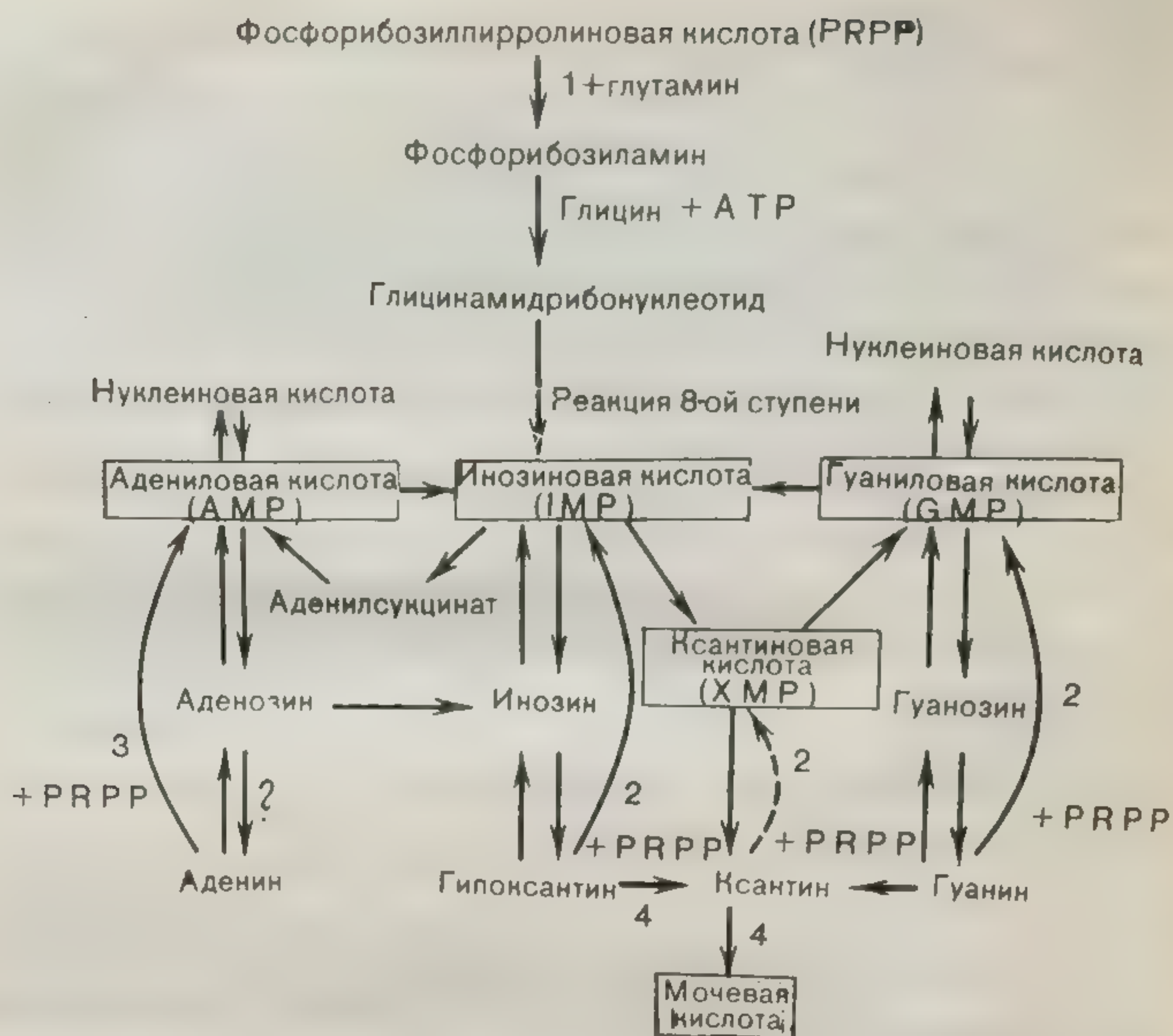


Рис. 7.1. Синтез пуриновых тел и расщепление на мочевую кислоту.

1 — фосфорибозилпирофосфатамидотрансфераза (PRPP—ATase);
2 — гипоксантингуанинфосфорибозилтрансфераза (HGPRTase);
3 — аденинфосфорибозилтрансфераза (A—PRTase); 4 — ксантин-оксидаза (X—O).

чить синтез пуринового ядра инозиновой кислоты (IMP). Этот путь синтеза детально иллюстрируется на рис. 7.2.

Короче говоря, эти пути синтеза *de novo* оказались выясненными благодаря использованию меченой изотопами аминокислоты в качестве исходного материала для синтеза. Если обобщенно рассмотреть, какая именно часть пуринового основания берет начало и из какой именно аминокислоты, то это будет выглядеть, как изображено на рис. 7.3. Такая же точно взаимозависимость будет и в варианте с мочевой кислотой, которая является продуктом расщепления пурина.

6. Взаимное превращение и катаболизм пуриннуклеотидов

Как иллюстрируется на рис. 7.1, IMP, проходя стадию аденилсукцината, превращается в AMP, а AMP посредством дезаминирования непосредственно превращается в

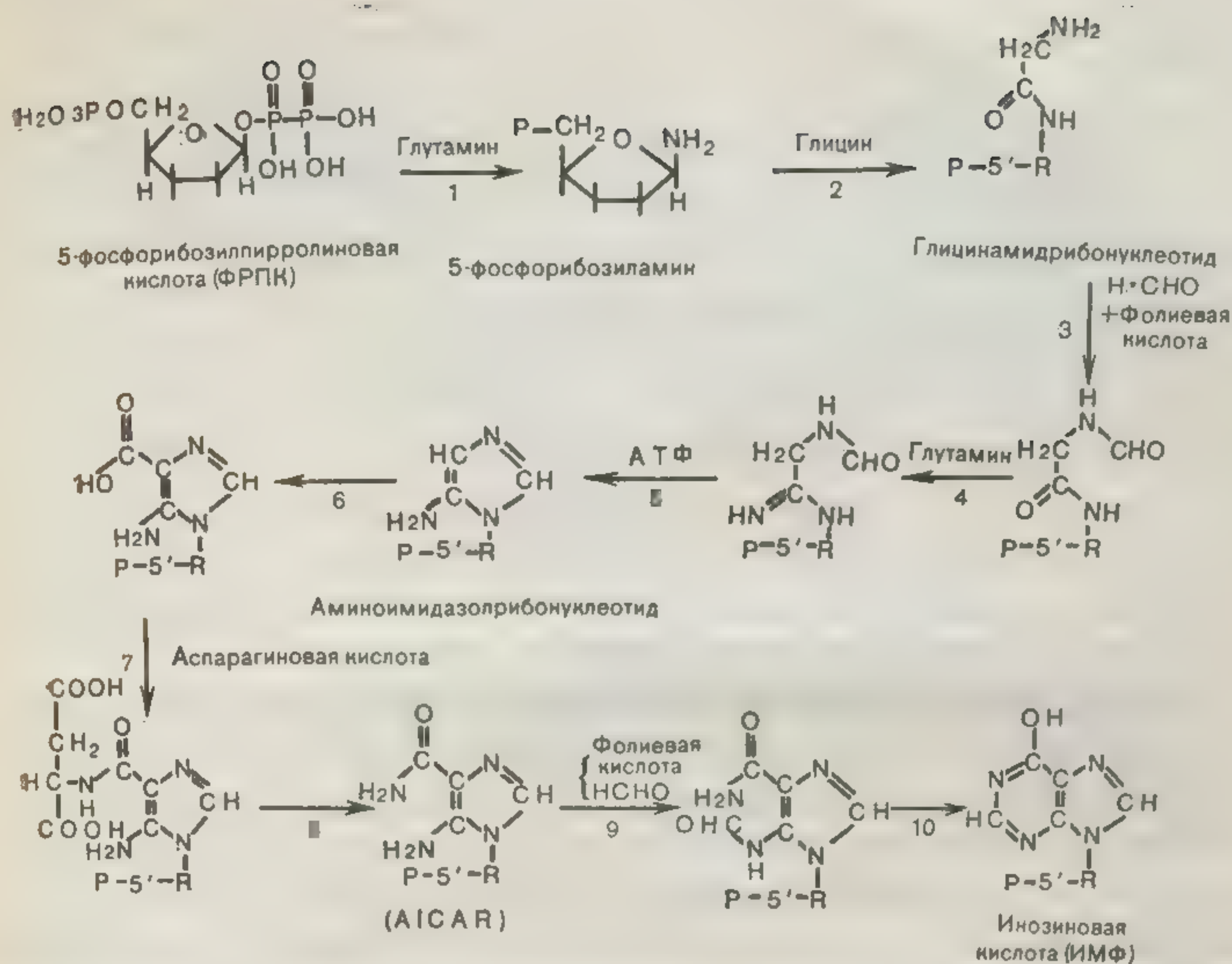


Рис. 7.2. Путь синтеза пуриновых тел de novo.

1 — амидотрансфераза (PRPP—ATase); 2 — глицинамидсинтетаза; 3, 9 — трансформилаза; 4 — формилглицинамидсинтетаза; 5 — аминокимидазолсинтетаза; 6 — аминокимидазолкарбоксилаза; 7 — аминокимидазолсукцинаткарбоксиамидосинтетаза; 8 — аденилсукцинатлиаза; 10 — ИМФ циклогидролаза.

IMP. Далее IMP, проходя стадию XMP, превращается в GMP, а GMP таким же образом непосредственно превращается в IMP. Предполагается, что такое взаимное превращение между пурииннуклеотидами поддерживает равновесие между соответствующими нуклеотидами и предотвращает возможное нарушение такого равновесия. В данном случае реакция $IMP \rightarrow AMP$, $IMP \rightarrow GMP$, благодаря $AMP \cdot GMP$, поддается контролю отрицательной обратной связи.

Остатки веществ, использованных пурииннуклеотидами в процессе синтеза нуклеиновых кислот, действием нуклеотидазы и фосфатазы превращаются в нуклеозиды, а затем они действием нуклеозидфосфорилазы расщепляются на основания нуклеиновых кислот (аденин, гуанин), а также на гипоксантин, являющийся продуктом промежуточного обмена. Ксантин — вещество-предшественник мочевой кислоты — формируется благодаря ксантиноксидазе из гипоксантина, с другой стороны, он может образовываться также и из гуанина при помощи гуаназы (рис. 7.1)

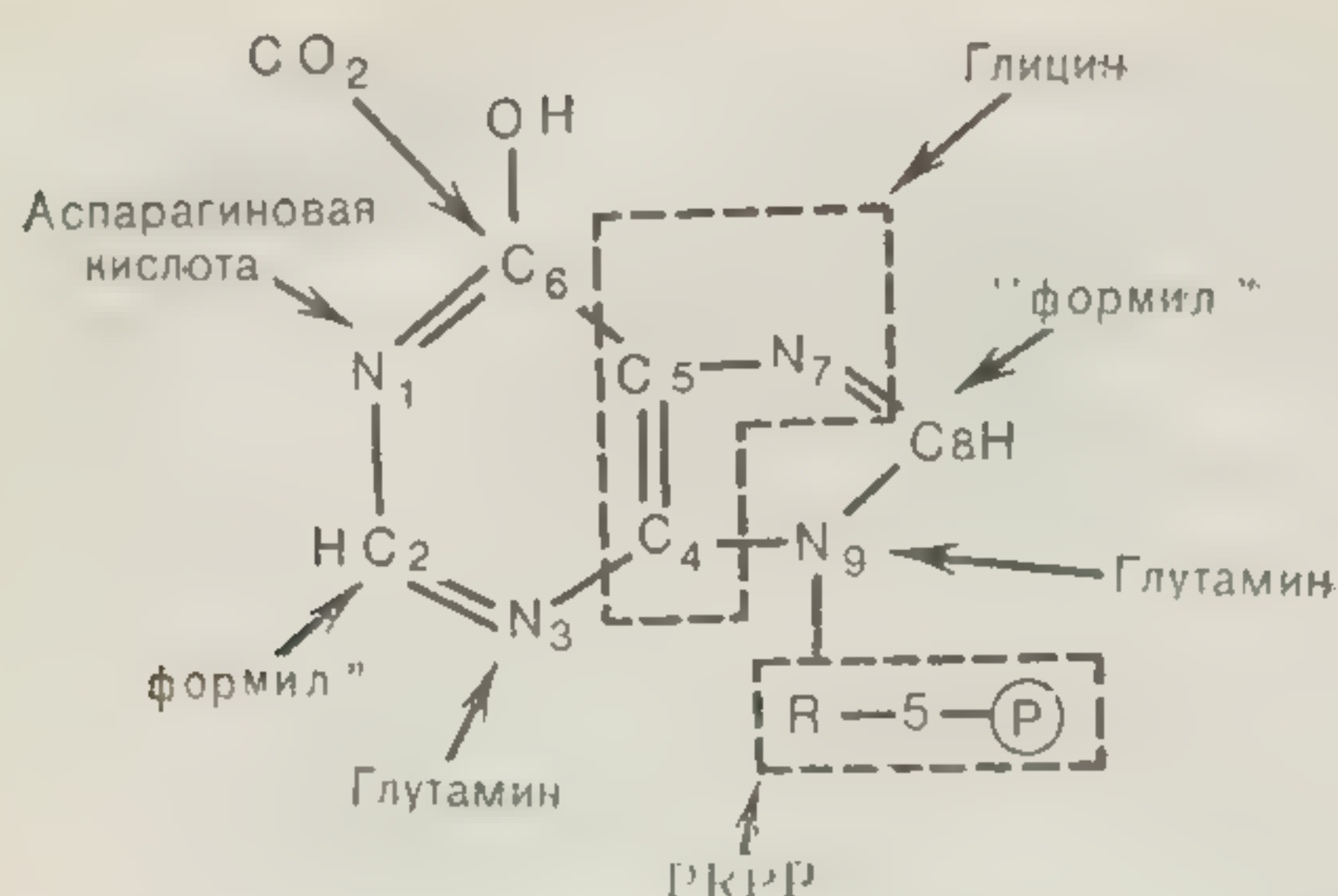


Рис. 7.3.
Структурные компонен-
ты пуриновых тел
(ИМФ).

Далее ксантин расщепляется при помощи ксантиноксидазы в мочевую кислоту.

У приматов, включая человека, мочевая кислота в качестве конечного продукта обмена выводится почками. У остальных млекопитающих она действием уриказы расщепляется на аллантоин. Между тем, хотя в организме человека не содержится уриказы, часть мочевой кислоты, маркированной ^{14}C , выделяется из его организма, превращаясь в мочевины, аллантоин, аммиак и пр. Это наводит на мысль, что у человека мочевая кислота, на первый взгляд входящая в число конечных продуктов обмена, участвует и в других побочных путях метаболизма. Характерной особенностью мочевой кислоты как труднорастворимой в воде является ее затрудненная экскреция. Учитывая тот факт, что в ходе эволюции человека путь расщепления — мочевая кислота → аллантоин → аллантоиновая кислота → мочевина → аммиак — сократился, необходимо признать, очевидно, его целесообразность. Вместе с тем, когда вслед за прогрессом цивилизации в питании человека произошел важный поворот от недостаточного питания к избыточному, возникло множество внезапных проблем вокруг вопроса об обмене веществ. Одним из примеров врожденных аномалий пуринового обмена является подагра. О взаимосвязанных с ней проблемах наследственности и окружающей среды будет говориться ниже в разделе г.

в. Восстановительный путь обмена пуриновых оснований и синдром Lesch—Nyhan

Известно, что свободные пуриновые основания, полученные в результате расщепления пурипнуклеотида, после восстановления повторно проходят путь синтетического

превращения в нуклеотид (путь «спасения»). Этот путь, как иллюстрируется на нижней части рис. 7.1, формирует из гипоксантина и гуанина в присутствии фосфорибозилпирофосфата соответственно IMP и GMP, а из аденина — AMP. Первая из этих двух реакций подвергается катализу при помощи гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (HG—PRTase), а вторая реакция — при помощи аденинфосфорибозилтрансферазы (A—PRTase). Считается, что для человека это очень важный путь превращений продуктов расщепления пуринов.

В отличие от принадлежности гена, соответствующего HG—PRTase, к X-сцеплению, ген, соответствующий A—PRTase, находится на поверхности аутосомы.

Синдром Lesch—Nyhan является редким заболеванием, вызванным изменениями HG—PRTase. Это заболевание представляет собой простую типичную наследственную аномалию среди других нарушений пуринового обмена (Lesch, Nyhan, 1964). Позднее примеры данного заболевания были выявлены в нескольких зарубежных странах, главным образом в Америке; довольно много случаев было выявлено и в Японии. Как уже было описано выше, заболевание имеет рецессивную форму наследования и сцеплено с X-хромосомой; однако заболевание, минуя мать, которая является носителем гена, проявляется в детях по мужской линии. Максимальная активность HG—PRTase у пациента по сравнению с нормой понижена, она составляет менее 1/10 000; напротив, активность A—PRTase повышена (приблизительно в 3 раза) и выходит за пределы нормы здорового человека. У матери-носителя гетерозиготности симптомы отсутствуют и показатель концентрации мочевой кислоты в крови находится в пределах нормы. Поскольку активность HG—PRTase в большинстве случаев не выходит за пределы нормы, то на этом основании оказывается невозможно разграничить норму от состояния гомозиготности (Kelley, 1968).

Клиническими симптомами, не считая сопровождающих гиперурикемию подагрического артрита, гематурии, нарушения функции почек, являются церебральные параличи, хорея или симптомы атетоза, нарушения интеллекта, а также попытки наносить себе раны. Эти попытки к саморанению в основном заключаются в укусах губ и пальцев; однако их истинное намерение не совсем понятно. Вместе с тем это представляет ценный пример, который привлекает всеобщее внимание, так как аномалии в пове-

Т а б л и ц а 7.1

Конечный продукт нуклеиновых кислот у позвоночных

Животные		Нуклеиновые кислоты	Белки	Влажность в местах рождения и обитания
Млекопитающие	Человек (приматы)	Мочевая кислота	Мочевина	Небольшая
	Прочие	Аллантоин	»	»
Птицы		Мочевая кислота	Мочевая кислота	»
Пресмыкающиеся	Змеи, ящерицы	Мочевая кислота	Мочевая кислота	»
	Черепахи	Аллантоин	Мочевина	Совсем небольшая
Двоякодышащие		Мочевина	»	» »
Рыбы	Твердокостные	Аммоний	Аммоний	Большая
	Пластинчатожаберные	Мочевина	Мочевина	»

дении человека тесно переплетаются с биохимическими аномалиями.

Если рассуждать с точки зрения включения при этом заболевания ^{14}C -глицина и глутамина в систему синтеза *de novo*, то синтез пурииннуклеотида из фосфорибозилпирофосфата в 200 раз превышает объект сопоставления. И напротив, выделение мочевой кислоты в мочу в 4 раза больше, чем у сопоставляемого ребенка со средними цифрами 45 мг/кг/сут, причем превышение достигает довольно значительной степени, перекрывая соответствующую экскрецию взрослого больного, страдающего формой подагры, вызванной гиперацидурией. Кроме того, общий объем содержания мочевой кислоты в организме таких детей почти равен объему мочевой кислоты у вышеописанных взрослых больных, страдающих подагрой, что в 3 раза превышает количество мочевой кислоты у здорового человека. Что же касается дефицита HG—PRTase как механизма, который предшествовал такому аномально форсированному круговороту мочевой кислоты, то в этом отношении строятся следующие предположения.

1. Из-за препятствий на пути восстановления увеличивается излишек фосфорибозилпирофосфата, что является первой ступенью системы синтеза *de novo* и повышает скорость ферментной реакции PRPP-ATase.

2. Из-за пути восстановления не вырабатывается IMP и GMP, что ведет к снижению отрицательной обратной связи.

3. Свободные пуриновые основания, абсорбированные в результате расщепления в организме нуклеотидов и полученные из продуктов питания, не участвуя в пути восстановления, принимают участие только в одной стороне транспорта процесса расщепления, причем только эта часть увеличивает образование мочевой кислоты.

4. Увеличенная A-PRTase повышает синтез инозина, инозиновой кислоты из аденина. Однако этот последний момент неясен, он несовместим с результатами лабораторных исследований носителей генов с увеличенной A-PRTase.

Следовательно, выявление синдрома Lesch—Nyhan дало возможность понять роль такого пути восстановления, как действие HG—PRTase, кроме того, прояснило разницу между генетическим контролем HG-PRTase и A-PRTase. Далее врожденный дефицит HG-PRTase (поскольку влияние, которое оказывает этот фермент на весь пуриновый

обмен в целом, очень велико) стал путеводной нитью, разъясняющей один конец сложного регулирующего механизма, действие которого распространяется на всю систему метаболизма в комплексе. Между тем данный синдром представляет собой аномалию, жестко обусловленную единственным геном, поэтому его недостаточность является причиной всего лишь части гиперурикемий, которые могут быть обусловлены большим числом генов.

Среди нарушений в пути восстановления пуриновых оснований выявлено еще одно врожденное заболевание — дефицит A-PRase. Ген, соответствующий этому ферменту, в отличие от гена HG-PRase является рецессивным и находится на поверхности аутосомы. До сих пор, однако, при дефиците A-PRase еще не выявлено клинических симптомов, подобных гиперурикемии и т. п.

г. Гиперурикемия и подагра

1) История подагры. Некоторые итоги

История подагры в Японии насчитывает совсем небольшой срок. До второй мировой войны даже говорили, что в Японии вовсе не существует подагры. Однако за последние 10 лет отмечается феноменальное увеличение числа больных подагрой. В процентном отношении рост подагры за последние годы гораздо значительнее, чем сахарного диабета, амилоидоза, аутоиммунных и других заболеваний, которые становятся постоянной темой для разговоров. Среди обычных японских популяций частота подагры, как правило, низкая; считают, что она составляет 0,1%. Однако, по-видимому, частота гиперурикемии намного выше частоты подагры. В отличие от Японии в Европе и США это заболевание было описано уже в эпоху Древнего Египта. Гиппократ вел наблюдения над больными подагрой и считал, что подагра редко встречается у менструирующих женщин, у евнухов (кастрированных мужчин) и у детей. Колхицин — лечебное средство, употребляемое при приступах подагры — был известен уже на заре V века. Это заболевание называли королевским, поскольку оно главным образом возникает у горьких пьяниц и людей, принимающих изысканную пищу. Позднее сущность данного заболевания в течение длительного срока оставалась полностью не разгаданной, но в конце XVIII века в подагрических отложениях была найдена мочевая кислота, а в

середине XIX века знаменитый Гаррод сделал вывод, что подагра является заболеванием, связанным с аномалиями обмена мочевой кислоты.

Между тем метаболизм мочевой кислоты подвергли серьезному исследованию лишь в середине XX века, когда был открыт пробенецид — средство, способствующее выделению мочевой кислоты.

Процент возникновения подагры, как предполагается, имеет соответственные расхождения в зависимости от различий в питании жителей городов и сельской местности. В Японии в целом, очевидно, он составляет $0,1 \sim 0,2\%$, в США $0,3 \sim 0,45\%$, в Англии — около $0,3\%$. В числе народов, отличающихся сравнительно высокой частотой заболевания, упоминаются племя маори, аборигены Марианских островов, американские индейцы, филиппинцы и пр. Такого рода расхождение в проценте заболеваемости подагрой среди разных народов, следует думать, происходит, во-первых, вследствие присутствия основного генетического фактора и, во-вторых, из-за различий привычек в питании, а также в результате взаимодействия этих двух обстоятельств (см. раздел д).

Если рассматривать коэффициент заболеваемости в зависимости от пола, то мужчины составляют подавляющее большинство, занимая свыше 90% . Однако тот факт, что в период до половой зрелости мужчины заболевают редко, а количество больных женщин в период после наступления менопаузы увеличивается, свидетельствует о тесной взаимосвязи данного заболевания с половыми гормонами (наследование, которое поддается сильному непосредственному и косвенному влиянию половых гормонов, называется наследованием, ограниченным полом; причем оно существенно отличается от наследования, сцепленного с полом, которое обуславливается геном, расположенным на поверхности половой хромосомы). Однако в варианте с подагрой, несмотря на сцепление нескольких видов генов, указывающих на аномалию HGPRTase, с X-хромосомой, все же получается, что частота заболеваний по мужской линии продолжает расти и далее.

Влияние факторов окружающей среды на подагру (главным образом питания) очень велико. Точно так же, как и в случае с сахарным диабетом, вместе с ухудшением положения с продуктами питания во время войны понизился и процент заболеваемости подагрой; кроме того, совершенно очевидно, что полные люди подвержены данному заболе-

ванию больше. В зависимости от рода деятельности процент заболеваний выше среди служащих предприятий, владельцев магазинов, спортсменов-борцов, врачей.

2) Клинические симптомы подагры и гиперурикемии

В качестве клинико-медицинского определения подагры следует привести следующее. 1. Как общее правило имеет место гиперурикемия; 2. гиперурикемия вызывает так называемые приступы подагры; 3. имеются подагрические отложения в суставах. Кроме того, отмечаются гематурия, протеинурия, симптомы почечной недостаточности, в первую очередь, камни в почках; на рентгенограмме костей — феномен пробитых зон; в крови — лейкоцитоз. Отмечается типичный артроз, совершенно неожиданно наступают острая боль в суставах, их покраснение и опухание с поражением в подавляющем большинстве случаев (50—70%) основных суставов большого пальца стопы, затем суставов стопы, причем обе ноги поражаются поочередно, а колени и локти поражаются сравнительно редко. Наиболее эффективным болеутоляющим средством является колхицин.

Что касается патологии заболевания, то при подагре на поверхность выходят симптомы артроза, которые вытесняют другие. Поэтому главными вопросами, которые рассматриваются в связи с этим, являются проблемы патологии онтогенеза и наследственности.

Таблица 7.2

Показатель концентрации мочевой кислоты
и частота подагры
(Hall et al., 1966)

Концентрация мочевой кислоты	Подагра, %
6,0—6,9	1,8
7,0—7,9	11,8
8,0 ↑	36,0

Кроме того, как это иллюстрируется в табл. 7.2, при повышении показателя концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови до 1 мг/дл частота приступов подагры и почечно-каменной болезни возрастает в несколько раз. Поэтому между степенью гиперурикемии и приступами подагры в

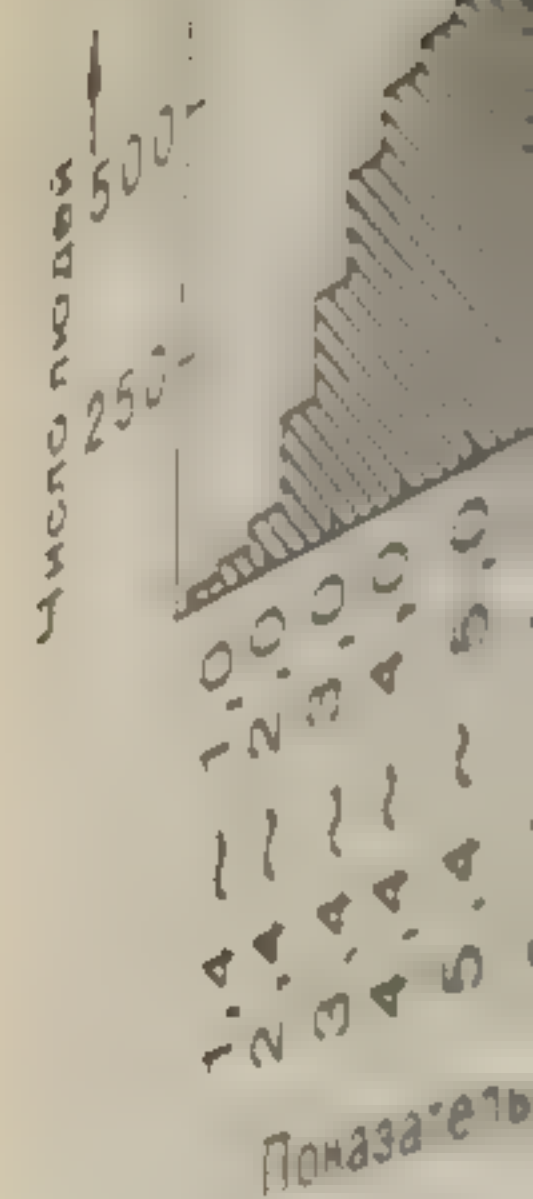


Рис. 7.4. Распределение
уратов в сыворотке
Kosunen et al., 1965).

известной степени им
мость. Однако, как п
вают многие основны
этих основных факто
имеющий отношение
кислоты, ген, имеющие
ции лейкоцитов и ра
предрасполагающие
ловательно, желатель
рядке рабочей гипот
целенаправленно изу
главное значение.

3) Распреде

Что касается расп
мочевой кислоты в с
стран, то по этому п
риалы научных изы
Как показало озн
пределение показат
обнаруживает в цел
же близкое к норм
графического распо
тельные расхожден
внимание на изряд
зателя концентрац
Способы измерения
метрический мет

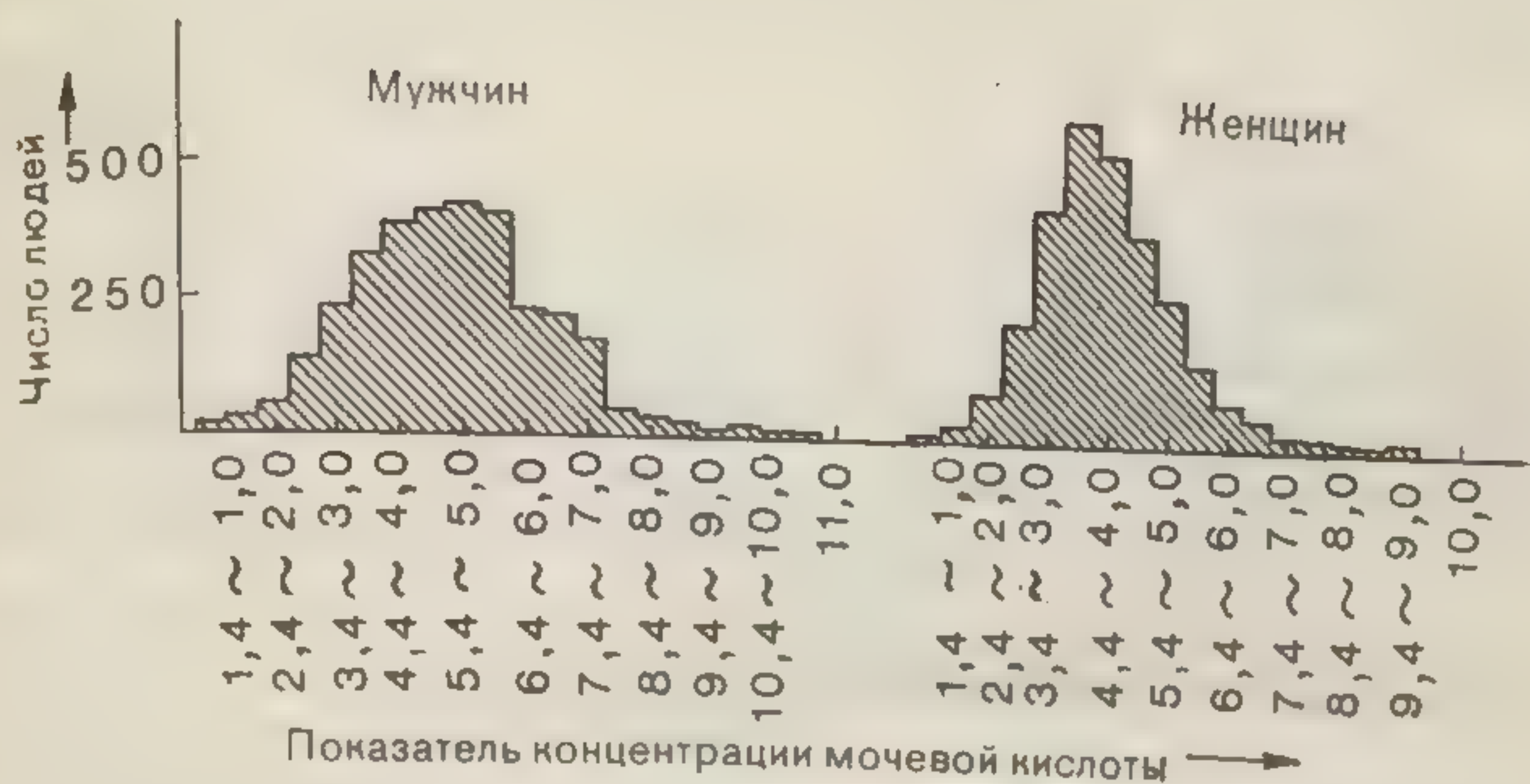


Рис. 7.4. Распределение показателей концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови среди населения Текамси (Mikkelsen et al., 1965).

известной степени имеется коррелятивная взаимозависимость. Однако, как предполагают, помимо этого срабатывают многие основные факторы. Так, например, в числе этих основных факторов, как считают, представлен ген, имеющий отношение к степени растворимости мочевой кислоты, ген, имеющий отношение к фагоцитарной функции лейкоцитов и расщеплению сахара, а также другие предрасполагающие моменты локального характера. Следовательно, желательно, чтобы в будущем, исключив в порядке рабочей гипотезы все эти сложные гены, начали целенаправленно изучать урикемию, как имеющую самое главное значение.

3) Распределение частоты гиперурикемии

Что касается распределения показателя концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови в популяциях других стран, то по этому поводу имеются многочисленные материалы научных изысканий (табл. 7.3 и рис. 7.4).

Как показало ознакомление с этими результатами, распределение показателя концентрации мочевой кислоты обнаруживает в целом нормальное ее распределение или же близкое к норме, причем в зависимости от расы и географического расположения отмечаются довольно значительные расхождения. Вместе с тем необходимо обращать внимание на изрядные погрешности при измерениях показателя концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови. Способы измерения подразделяются на три вида: колориметрический метод (способ Форина, способ Брауна, спометрический метод

Средний показатель концентрации мочевой кислоты в сыворотке крови в разных популяциях

Район	Пол	Возраст	Способ измерения	Число обследованных людей	Среднее \pm отклонение от нормы	Авторы сообщений
Тихая, Акасака	М.	45 >	Метод Брауна (Brown) 125	86	5,06 \pm 1,12	Нанагава
		45 \leq		72	4,65 \pm 1,14	
	Ж.	45 >		125	3,83 \pm 0,91	
		45 \leq		99	3,89 \pm 0,99	
г. Тондабаяси	М.	45 >	Измененный метод Caraway	104	4,11 \pm 1,09	Нанагава
		45 \leq		116	4,29 \pm 1,16	
	Ж.	45 >		115	3,23 \pm 0,84	
		45 \leq		95	3,62 \pm 0,94	
Филиппинцы (проживающие в Северной Америке)	М.	40 ~ 67	Уриказа	113	6,3 \pm 1,4	Decker с соавт.
	»			88	5,0 \pm 1,1	
Америка Фланиган	М.	32 ~ 64	Измененный метод Folin	2283	5,21 \pm 1,11	Hall с соавт.
	Ж.			2844	4,00 \pm 0,94	
Америка Tecumseh	М.	4 ~ 80 +	Уриказа	2987	4,91 \pm 1,40	Mikkelsen с соавт.
	Ж.			3013	4,18 \pm 1,16	

соб Кяравэй), колориметрический метод с использованием автоматического анализатора (метод Клори) и метод с применением уриказы.

Согласно большинству сообщений, средний показатель концентрации мочевой кислоты у мужчин по сравнению с женщинами выше почти на 1 мг/дл. Кроме того, наравне с половыми различиями следует обратить внимание на то, что и показателях происходят изменения в зависимости от возраста. У мужчин в период половой зрелости они повышаются, а позднее их рост замедляется, тогда как у женщин показатели заметно начинают расти в период после наступления менопаузы (Mikkelsen et al., 1965).

Итак, как и следовало ожидать, из-за переплетения различных основных факторов в определении так называемого порогового индекса, выявляющего, является ли гиперурикемией превышение каких-либо величин, выраженных в мг/дл, существует много разных теорий. Хотя по методу выборочного исследования следовало бы принять средний показатель $\pm 2^{SD(5\%)}$ или средний показатель $\pm 2,6^{SD(1\%)}$. Обычно экспериментально берется 6 ~ 7 ~ 8 мг/дл. Естественно, что в этом пороговом показателе, также как и в показателях концентрации сахара в крови и кровяного давления, отклонения в непрерывно переменных величинах представляют собой проблемный момент, и пороговый индекс не может быть абсолютным. Поэтому в общем следует помнить, что он не более чем относительный показатель.

Частота гиперурикемии, поскольку она изменяется в зависимости от взятого порогового индекса и способов измерения, не может одновременно обсуждаться по всем данным, однако среди японцев она приблизительно определяется около 3 ~ 10%. Имеются сообщения, что в Европе и США она составляет 6 ~ 20%, у филиппинцев — 27%, у аборигенов Новой Зеландии — 45%. Таким образом, на примерах популяций с крайне высокой частотой еще имеется возможность вновь изучить действительные пределы норм, а также уровень, на котором следует установить пороговый показатель гиперурикемии.

4) Классификация гиперурикемии с точки зрения причины возникновения заболевания

Гиперурикемию невозможно унифицировать, так как она обусловлена самыми различными факторами. Если их классифицировать с точки зрения причин, вызывающих

заболевание, то это будет выглядеть, как показано в табл. 7.4; под пунктом 2) первой рубрики обобщается вторичная гиперурикемия. О первичной гиперурикемии будет говориться в главе о наследственности. Под пунктом 3) — самый высокий показатель концентрации мочевой кислоты в крови — повышающийся в связи с пуриновыми основаниями, имеющими характер внешних факторов, усваиваемых в виде пищи, — составляет 1 мг и лишь незначительно влияет на общий объем мочевой кислоты. Кроме того, отсутствуют также показания в ускорении процесса всасывания пуриновых тел в кишечном тракте пациента. 4) Что касается аномалий органов внутренней секреции при заболеваниях щитовидной железы, паращитовидной железы, надпочечника, то хотя при этих заболеваниях, как уже отмечалось, образование мочевой кислоты увеличивается, предполагают, что довольно значительное влияние оказывает на это половой гормон. Итак, хотя это и не отражено в таблице, при гиперурикемии, наблюдаемой при первой

Т а б л и ц а 7.4

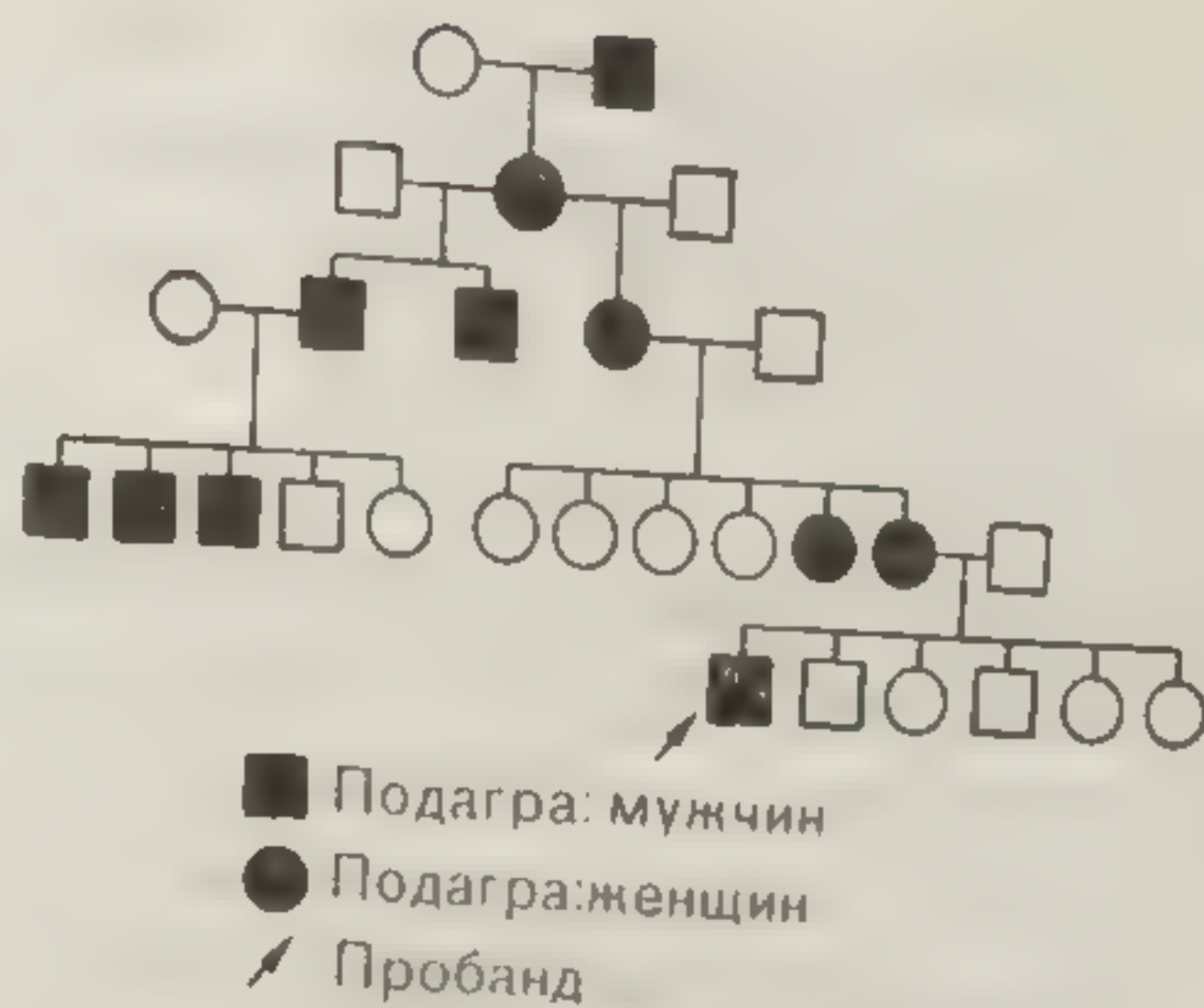
Классификация гиперурикемии в зависимости от причины возникновения

1. Объясняется увеличенным содержанием пуриновых тел
 - 1) Ускорение системы синтеза de novo (первичная гиперурикемия)
 - а) Должно называться первоначальным заболеванием.
В равной мере обусловлено многими генами и условиями окружающей среды
 - б) Сопровождается изменением в активации HG—PRTase или A—PRTase
 - в) Синдром Lesch—Nyhan
 - 2) Ускорение расщепления нуклеиновых кислот
Лейкемия, полицитемия, множественная миелома, злокачественная лимфопатия, псориаз, противоопухолевые препараты, радиотерапия
 - 3) Обильное питание или ускорение абсорбции в кишечнике
 - 4) Изменения в органах внутренней секреции
2. Происходит в результате нарушений в выделении мочевой кислоты

Врожденное нарушение экскреции мочевой кислоты (снижение секреторных функций в дистальных мочевых канальцах)
Почечные нарушения (нефрит, нефроз и т. д.)
Употребление диуретиков (тиазид, этакриновая кислота, фуросемид, дамазокс)
Другие препараты (ацетилсалициловая кислота, ПАСК, пиразинамид), молочная кислота, кетоновые тела

Рис. 7.5.

Пример одной семьи с подагрой (воспроизводится с исправлениями по Миканаги, 1969).



форме сахарного диабета (von Gierke, дефицит глюкозо-6-фосфатазы), ставший избыточным глюкозо-6-фосфат превращается в PRPP и, как предполагается, вступает в систему синтеза de novo. Это, как иллюстрируется на рис. 7.1, является гиперурикемией, вызванной влиянием гена другого локуса, относящегося к побочной системе пути пуринового обмена, и вполне возможно, что подобные случаи имеют место и в других путях метаболизма.

д. Наследственность первичной гиперурикемии

Поскольку подагра время от времени обнаруживается преимущественно в некоторых семьях, то довольно давно стало известно о причастности наследственности к возникновению этого заболевания. До наших дней было выдвинуто много различных теорий, начиная с теории о доминантной форме наследования, однако теорией об единичном гене невозможно объяснить наследственность подагры в целом. Как это показано на рис. 7.5, если посмотреть на генеалогическую таблицу, то с первого же взгляда можно заметить аутосомно-доминантное наследование, и хотя скачкообразных пропусков не обнаруживается, таблица показывает высокий коэффициент пенетрации. Между тем подобные примеры плотной сосредоточенности по генеалогической линии скорее всего редки, поэтому коэффициент заболеваемости по семейной линии составляет от 5 ~ 30%. Следовательно, мы приходим к выводу, что и в варианте с подагрой, равно как и при сахарном диабете и гипертонии, много спорадических случаев. Кроме того, при подагре, исходя из соображений, что 1) объяснение наследования влиянием единичного гена неприемлемо, 2) имеет место много спорадических случаев, 3) заболевание легко поддается влиянию факторов

окружающей среды — мы имеем возможность предполагать многофакторную наследственность.

Как уже отмечалось, между гиперурикемией, которая является первой ступенью подагры и имеет отношение к непрерывно переменным величинам, и подагрой, которая содержит важный фактор «все или ничего», существует, по всей вероятности, много важных факторов, вызывающих заболевание, включая сюда также и ген. Поэтому ниже разъяснение генетических проблем будет сосредоточено на первичной гиперурикемии.

Поскольку показатель мочевой кислоты является количественным признаком, выраженным непрерывно переменными величинами, то необходимо говорить о распределении переменных величин в обычной популяции. В отношении людей это распределение, как уже было показано в табл. 7.3 и на рис. 7.4, принимает форму, близкую к нормальному распределению. Если бы, согласно этому распределению, разброс S^2 оказался бы незначительным, то можно было бы полагать, что генов, осуществляющих над этим контроль, всего только один или около того. Однако в том случае, когда разброс принимает соответственно значительный размах, то и вероятность наличия многих генов гораздо выше.

Обследование, проведенное в США в штате Мичиган, когда объектом изучения послужило все население Текамси старше 4 лет (независимо от того, что материалы такого рода представляют большую сложность из-за величины масштабов), имеет особое значение в том плане, что оно не является обследованием подагры и родословных в качестве пробанда (Mikkelsen et al., 1965). Как это явствует из рис. 7.4, несмотря на приближение распределения показателя мочевой кислоты в этой естественной популяции к нормальному, еще имеется довольно много индивидов, обнаруживающих высокие показатели, как среди мужчин, так и среди женщин. Только эта часть и имеет предрасположенность к заболеванию. Эта склонность становится еще более очевидной, если рассмотреть материалы обследования, проведенного в семьях, страдающих подагрой, и родословные их популяции. В то же время прежде, согласно утверждениям, обнаруживалось лишь двухпиковое распределение.

Что касается наследования показателя мочевой кислоты, то предположение, которое можно построить на основе этих данных, сводится к следующему: для показателя мо-

чевой кислоты, являющегося количественным признаком, находящимся под контролем многих генов, кроме этого еще имеется несколько особых генов, обуславливающих эффект, близкий к таковому основных генов. Так называемая типичная полигенная система считается взаимно дополняющей себя, ибо воздействие каждого гена в отдельности из-за разброса, обусловленного окружающей средой, незначительно. В действительности же один ген в состоянии также проявлять силу, извлеченную из другой группы генов, что расходится с теорией. Получается, что этот главный ген и группа полигенов выражают один вид генетической гетерогенности. Более того, если генов, играющих главную роль, существует много, то между ними также возникает генетическая гетерогенность. Взаимосвязь между полигенами и главными генами и показателе мочевого кислоты очень сложна, поэтому детали ее неясны.

Типичную форму такого случая можно проследить на примере взаимосвязи между распределением показателя умственных способностей и многими умственными нарушениями, вызванными единичным геном. Если бы показатель мочевого кислоты в сыворотке крови благодаря полигенности представлял бы собой непрерывно переменную величину, то можно было бы подсчитать наследуемость. French с соавт. (1967) сообщает о популяции Текамси, что процент наследуемости, исходя из соотношений между родителями и детьми, предварительно оценивается в $28,6 \sim 33,8\%$, т. е. основной наследственный фактор довольно велик. Между тем тот факт, что в отличие от сахарного диабета и гипертонии наследуемость в данном случае ниже 50% , заслуживает в дальнейшем особого внимания. Те нарушения, которые требуют показателя мочевого кислоты в сыворотке крови на основании корреляции между родителями и детьми, в любом случае подвержены влиянию возрастного разрыва между родителями и детьми. В частности, необходимо учитывать, что проявление воздействия гена незначительно, пока возраст детей еще не достиг периода половой зрелости (о полигене и наследуемости см. раздел 3, гл. 6).

Синдром Lesch—Nyhan, — хотя это явно гиперурикемия, обусловленная действием главного гена, — отличается крайне низкой частотой; поэтому распространяет ли он свое влияние на отклонение кривой распределения в естественной популяции, еще остается проблемой. У гетеро-

носителя гена синдрома Lesch—Nyhan (у матери больного) показатель мочевой кислоты нормальный, активность HG-PRTase эритроцитов, не считая одного примера, также в большинстве случаев нормальная. У женщин одна из двух X-хромосом, инактивируясь, отвердевает, и этот момент клетка случайно распределяет, какая из двух X-хромосом должна подвергнуться инактивации (гипотеза Райана). За последнее время, как утверждают, культивируя фибробласты кожи носителя гена, нашли возможным различать клетки HG-PRTase⁺ и HG-PRTase⁻ (Migeon, 1971). Если полагаться на этот метод, то время от времени встречаются индивиды, у которых кулон HG-PRTase⁺ составляет не более чем 1/4 часть всей клетки. Поэтому, если предположить, что такое явление постигнет X-хромосому эритроцита, то следует думать, это будет сопряжено с понижением активности HG-PRTase эритроцитов.

Почти достоверно, что эта мутация в локусе иногда происходит, поскольку существуют мать и бабушка, чьи мутанты колонии по HG-PRTase не обнаруживаются. Частота мутаций в культивированной клетке принимается за величину, не достигающую 10⁻⁵, поэтому следует думать, что гетерочастотность внутри естественной популяции тоже крайне незначительна.

Исходя из вышеизложенных фактов, совершенно очевидно, что ген, относящийся к синтезу HG-PRTase, расположен на поверхности X-хромосомы. И хотя функция этого гена при синдроме Lesch—Nyhan полностью утрачена, за последние годы было обнаружено, что активация HG-PRTase, несмотря на ее частичное понижение, все же наблюдается у больных первичной гиперурикемией (табл. 7.5).

Все эти больные подагрой с пониженной активацией HG-PRTase относятся к мужской линии, причем артриты у них возникают в период между 13 и 34 годами, а нервные симптомы, наблюдаемые при синдроме Lesch—Nyhan, отсутствуют. По всей вероятности, можно предполагать, что этот ген находится в одном и том же локусе с геном синдрома Lesch—Nyhan, однако в качественном смысле это не совсем так. Как видно из данных таблицы, хотя в активации ферментов имеется большой разброс, но поскольку внутри одной и той же генеалогической линии между ними имеется большое сходство, становится ясным, что гены других локусов распространяют на них свое влияние. Кроме того, проблемой, которая обязательно требует

Активация
Объект из
Здоровых (32 примера)
Больные подагрой
С нормальным
ннем мочевой
(6 примеров)
Лица с повышенным
цией мочевой кис.
С нормальными
лями ферментов
меров)
С отклонениями в
тах (18 примеров)
I-родословная
»
»
L-родословная
»
S-родословная
D-родословная
G-родословная
G-родословная
S-родословная
I-родословная
R-родословная
M-родословная
T-родословная
»
»
K-родословная
»
Синдром
(9 примеров) Lesch—
Разрешения в буд
синдрома Lesch—
ва Migeon.
Итак, даже в
нии первичн

Таблица 7.5

Активация HG-PRTase и A-PRTase гемолизата эритроцитов
(Kelly, 1969)

Объект изучения	Активация PRTase		
	мкмоль/мг белок/ч		
	гипоксантин	гуанин	аденин
Здоровых (32 примера)	103±18	103±21	31,1±6,0
Больные подагрой			
С нормальным образова- нием мочевой кислоты (6 примеров)	99±13	106±10	31,1±6,9
Лица с повышенной экскре- цией мочевой кислоты			
С нормальными показате- лями ферментов (10 при- меров)	103±118	104±22	30,4±5,3
С отклонениями в фермен- тах (18 примеров)			
J-родословная FJ	1,3	0,6	45,8
» RJ	1,5	0,8	43,2
» TJ	1,8	0,8	56,4
L-родословная FL	11,8	0,5	74,0
» ML	8,7	0,5	63,8
S ₁ -родословная TS	9,9	9,5	39
D-родословная AD	12,2	17,3	33
G-родословная JG	9,4	8,8	32
G-родословная RG	9,2	7,5	38
S ₂ -родословная GS	0,03	0,009	58
I-родословная TI	0,06	0,09	32
R-родословная AR	0,9	0,5	48
M-родословная CM	2,7	3,7	26
T-родословная RT	0,06	0,07	36
» MW	0,06	0,05	29
» RL	0,09	0,10	44
N-родословная CN	0,3	0,3	35
» ES	0,4	0,3	39
Синдром Lesch—Nyhan (9 примеров)	Всего примеров <0,01	Всего примеров <0,004	59,9±15,8

разрешения в будущем, является вопрос о взаимосвязи синдрома Lesch—Nyhan с формой A, которая была описа- на Migeon.

Итак, даже взяв одну только HG-PRTase в наследова- нии первичной гиперурикемии, можно обнаружить не-

сколько видов мутантных генов. Далее, описан случай гиперурикемии с повышенной активацией А-РРТase при нормальной активации НГ-РРТase. Как иллюстрируется на рис. 7.1 и 7.2, ферментов, принимающих участие в метаболизме мочевой кислоты, много; помимо того, нельзя не включить сюда и влияния ферментов побочной системы обмена, как в этом можно убедиться на примере I формы сахарного диабета, а также вплоть до неизвестных нам ферментов. Кроме того, если предположить, что над сложным механизмом, регулирующим скорость реакций всех этих ферментных систем, в свою очередь стоит генетический контроль, то количество генов, связанных со всем метаболизмом мочевой кислоты в целом, может достичь довольно значительного числа.

е. Ксантинурия

Ксантинурией называют заболевание, при котором из-за врожденного дефицита ксантиноксидазы, как это показано на рис. 7.1, прерывается путь обмена гипоксантин (Нх) → ксантин (Х) → мочевая кислота, что вызывает увеличение концентрации гипоксантина и ксантина в крови. Активация ксантиноксидазы, составляя менее 0,1% по сравнению с нормальной, чрезвычайно низка, поэтому образование мочевой кислоты крайне ограничено, незначительно и выделение ее в мочу. Показатель мочевой кислоты в сыворотке крови достигает 0,04 ~ 0,5 мг/дл и, как показано на рис. 7.4, склонен к дальнейшему опусканию уровня нижней границы распределения.

И напротив, содержание оксипурина в крови (Нх + Х), составляя 0,3 ~ 0,74 мг/дл, по сравнению с нормой повышено. Количество мочевой кислоты в моче чрезвычайно низкое, оно составляет менее 50 мг/день (норма около 500 мг/день). Количество выделяемого в мочу оксипурина составляет 176 ~ 517 мг/день (норма 11 ~ 22), причем большая его часть приходится на ксантин, а на гипоксантин падает мало. Это происходит, по всей вероятности, потому, что активация НГ-РРТase в случае использования в качестве субстрата гипоксантина почти в 300 раз превышает вариант с использованием в качестве субстрата ксантина; поэтому, прибегая к пути «спасения», это соединение и используется повторно.

Что касается формы наследования данного заболевания, то, основываясь на материалах генеалогических обследо-

ний, которыми мы располагаем сегодня, можно отклонить доминантное наследование и рецессивное наследование, сцепленное с полом. Вероятно, следует полагать, что в данном случае, как и при заболеваниях, связанных с дефицитом многих ферментов, заболевание обуславливается редким аутосомно-рецессивным геном.

Говоря о клинических симптомах, не считая того, что у трети больных наблюдаются камни в мочевых путях, какие-либо явные симптомы отсутствуют, лишь время от времени наблюдаются почечные нарушения и полиартриты. Это происходит потому, что ксантин обладает свойством плохо растворяться в присутствии мочевой кислоты (6,5 мг/дл, pH 7,0; 16,5 мг/дл, pH 8,1). Между тем ксантин не реабсорбируется почками, и хотя его клиренс в 3~5 раз превышает клиренс мочевой кислоты, процент возникновения почечных нарушений невысок; кроме того, возраст, когда возникает заболевание, по сравнению с другими наследственными заболеваниями рецессивного типа, более поздний. По-видимому, прогноз для данного заболевания по сравнению с синдромом Lesch—Nyhan и юношеской подагрой благоприятнее.

За последние годы в качестве лечебного средства против гиперурикемии появился аллопуринол, который вызывает конкуренцию между Hx и X и благодаря этому служит средством, контролирующим ксантоксидазу. Оксипуринол (аллоксантин), являющийся продуктом окисления аллопуринола, тоже обладает аналогичным тормозящим воздействием, однако в процессе применения аллопуринола у больных подагрой может повыситься содержание ксантина и гипоксантина. Вместе с тем, как утверждают, поскольку аллопуринол подавляет активацию PRPP-ATase, накопления оксипурина фактически не происходит. Этот момент в будущем еще потребует долгих наблюдений, однако, на первый взгляд, у больных, применявших аллопуринол, количество выделяемой мочи удерживалось на уровне выше установленной нормы, поэтому обязательно следует обращать особое внимание на щелочные свойства мочи.

ж. Ацидемия — как результат повышенного содержания фолиевой кислоты

Фолиевая кислота в человеческом организме не синтезируется, она всасывается из пищи, превращаясь в восстановленные формы (FH_2 , FH_4), причем во время биосинте-

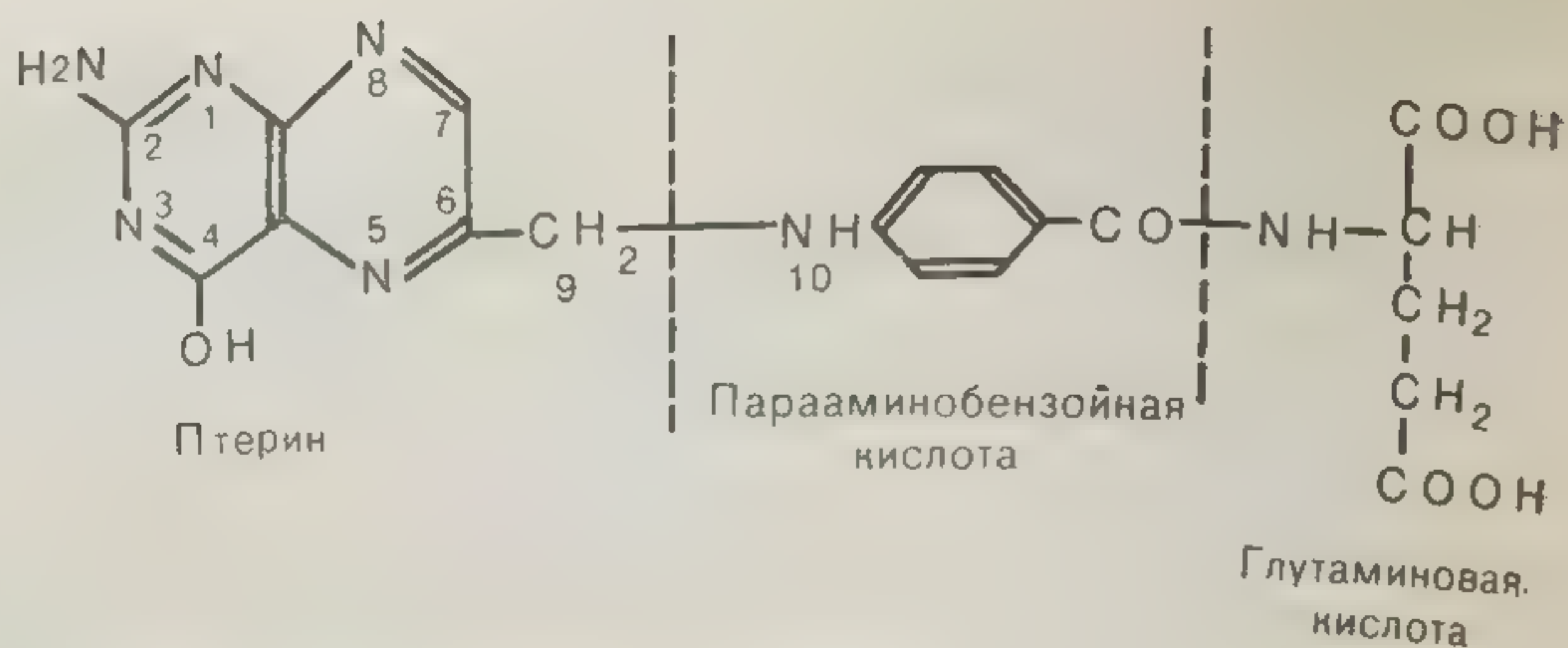


Рис. 7.6. Структура фолиевой кислоты.

за пуриновых тел, пиримидиновых тел и аминокислот она прodelывает работу по введению 1 атома углерода (C_1 -единицы).

На рис. 7.6 показана структура фолиевой кислоты, N^5 и N^{10} , которые, несмотря на превращение в NH , все же являются FH_4 ; FH_4 захватывает в позиции N^{10} муравьиную кислоту ($HCOOH$) и превращается в N^{10} — формил FH_4 . Кроме того, позиция N^5 вступает в реакцию с формимино-глутаминовой кислотой ($FIGLU$) и, превратившись в N^5 -формимино- FH_4 , далее превращается в $N^{5,10}$ -метинил- FH_4 .

Что касается системы пуринового синтеза *de novo*, то N^{10} -формил- FH_4 , $N^{5,10}$ -метинил- FH_4 , как указано на рис. 7.2, выполняют функции снабжения атомами углерода 2-й позиции и 8-й позиции пуринового ядра в качестве коферментов 3- и 9-трансформилазы. Поскольку эти коферменты фолиевой кислоты типа промежуточных активаторов подвергаются метаболизму после сформирования сложной цепи, между ними находится по меньшей мере 7 видов причастных к этому ферментов. В настоящее время уже известно, что дефицит двух видов ферментов из этого числа вызывает нарушения синтеза ДНК, РНК и накопления фолиевой кислоты.

1) Заболевание, вызванное дефицитом формиминотрансферазы

Понижение реакции $NH_4 \rightarrow N^5$ -формимино- FH_4 сопровождается увеличением выделения $FIGLU$ в мочу. Наблюдаются нарушения в развитии психики, отклонения на энцефалограмме, микроцефалия, увеличение желудочков головного мозга.

2) Заболевание, вызванное дефицитом трансферазы
 N^5 -метилтетрагидрофолиевой кислоты
 (дефицит трансферазы N^5 - CH_3 - FH_4)

Блокируется реакция N^5 -метил- $FH_4 \rightarrow FH_4$. В качестве клинических симптомов отмечают неполноценное психическое развитие, отклонения в головном мозге, аналогичные предыдущему заболеванию, но при этом отсутствует увеличенная экскреция FIGLU с мочой, в костном мозге обнаруживаются гигантские эритромиелобласты.

Что касается наследования, то в связи с незначительным числом случаев заболевания особенности наследственности все еще не достигли стадии анализа. Тем не менее в связи с наличием примеров заболевания у братьев, оба из родителей которых здоровы, в целом можно считать, что имеется вероятность аутосомно-рецессивного наследования.

3. Ацидурия, вызванная повышенным содержанием
 оротовой кислоты

Путь синтеза де novo пиримидиновых тел происходит, как показано на рис. 7.7. Оротовая кислота является промежуточным продуктом обмена в этом синтезе. При данном заболевании наблюдается одновременный дефицит двух ферментов — оротидинпирофосфорилазы и оротидиндекарбоксилазы. В результате тормозится синтез предшественников оротидиновой кислоты. Поскольку же образуется недостаток пиримидиновых тел, которые должны стать материалом для образования нуклеиновых кислот, это вызывает нарушения в развитии и макроэри-

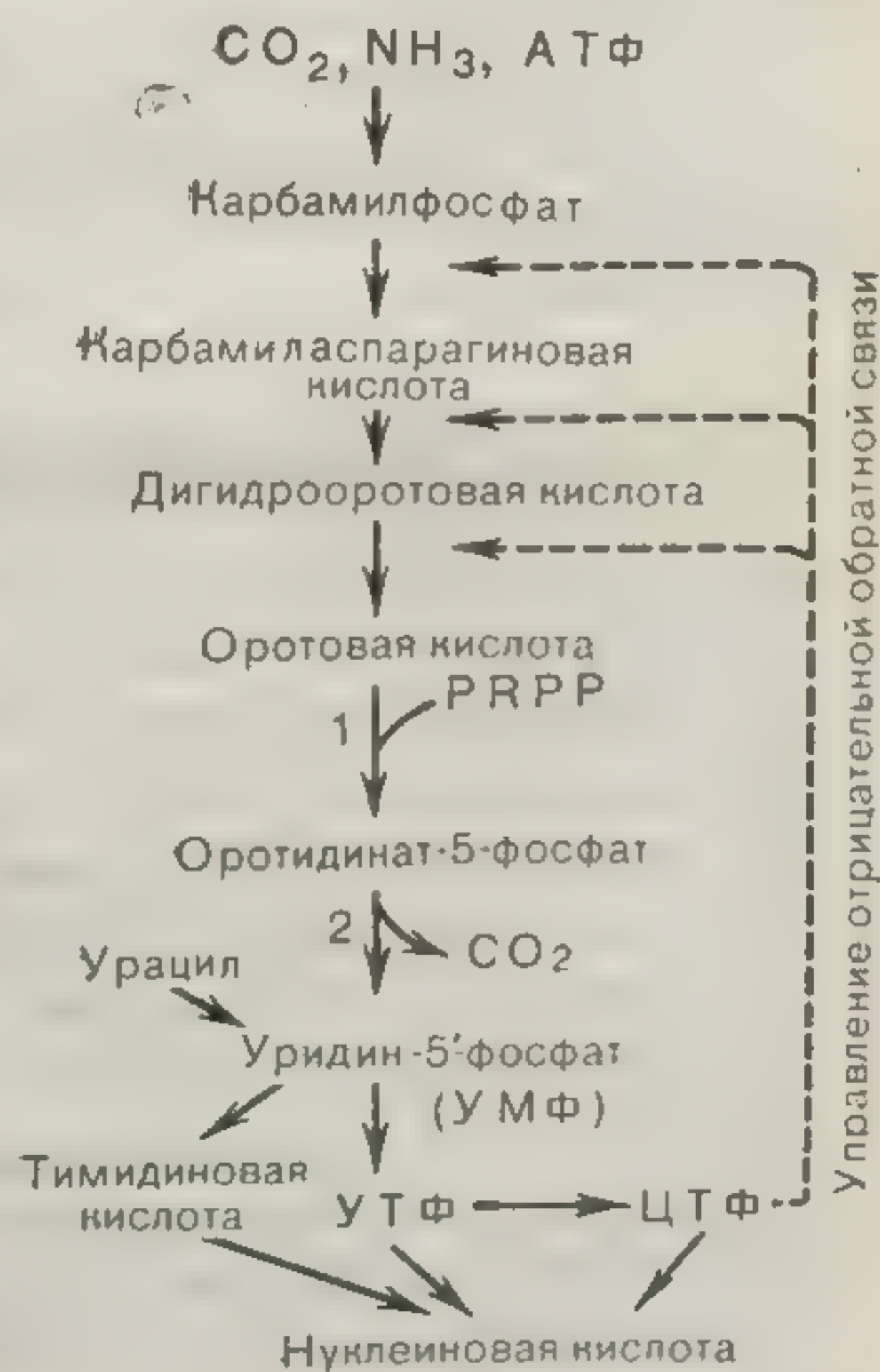


Рис. 7.7.

Путь биосинтеза пиримидиновых тел де novo. При оротовой ацидурии ферменты 1, 2 отсутствуют.

1 — оротидинацидопирофосфорилаза,
 2 — оротидинацидодекрбоксилаза.

тробластемию. С одной стороны, коль скоро контроль отрицательной обратной связи цитидиновой кислоты становится ненадежным, начинают увеличиваться в количестве вначале оротовая кислота, затем орнителидиновая кислота, дигидрооротовая кислота и карбамиласпарагиновая кислота. Так как оротовая кислота, выделяемая в мочу, одинаково труднорастворима и в присутствии мочевой кислоты и ксантина, в мочевом тракте образуются камни.

Одновременный дефицит двух ферментов, характерный для данного заболевания, наводит на мысль, что два структурных гена, контролирующих формирование этих ферментов (как это видно на примере бактерий), образуют оперон. Следовательно, данное заболевание, очевидно, обуславливается либо изменениями гена-оператора внутри оперона, либо одновременной делецией двух близлежащих структурных генов.

Что касается формы наследования, то у индивидов, которые по предположениям являются гетерозиготами, активация фосфорилазы оротидиновой кислоты обнаруживает показатель $0,3 \sim 3$ мк молей (у здоровых $6 \sim 8$, у больных ниже $0,2$ мк молей), при показателе активации декарбоксилазы оротидиновой кислоты $1 \sim 4$ мк молей (у здоровых — $10 \sim 17$, у больных — ниже $0,1$ мк молей), причем наблюдается трехпиковое распределение. Разумеется, гетерозиготы не обнаруживают никаких клинических симптомов. Это свидетельствует о том, что данное заболевание обуславливается редкой аутосомной и не полностью рецессивной формой наследования.

7.2. АНОМАЛИИ В СИНТЕЗЕ ПОРФИРИНОВ

Порфириновые тела являются продуктами промежуточного обмена гемоглобина, цитохрома, каталазы и других фракций белков, участвующих в пути биосинтеза гема. Общеизвестно, что в системе синтеза гема, как это иллюстрируется на рис. 7.8, участвуют 6 видов ферментов. Первая форма, являющаяся мутантом уропорфириногена III, не относится к синтезу гема.

Характерная особенность данного пути обмена заключается в том, что из-за отсутствия обратимости реакций, которая наблюдается при обычных путях метаболизма, в целях поддержания абсолютно одностороннего транспорта все реакции находятся под контролем скорости реакции ферментного синтеза δ -аминолевулиновой кислоты (ALA),

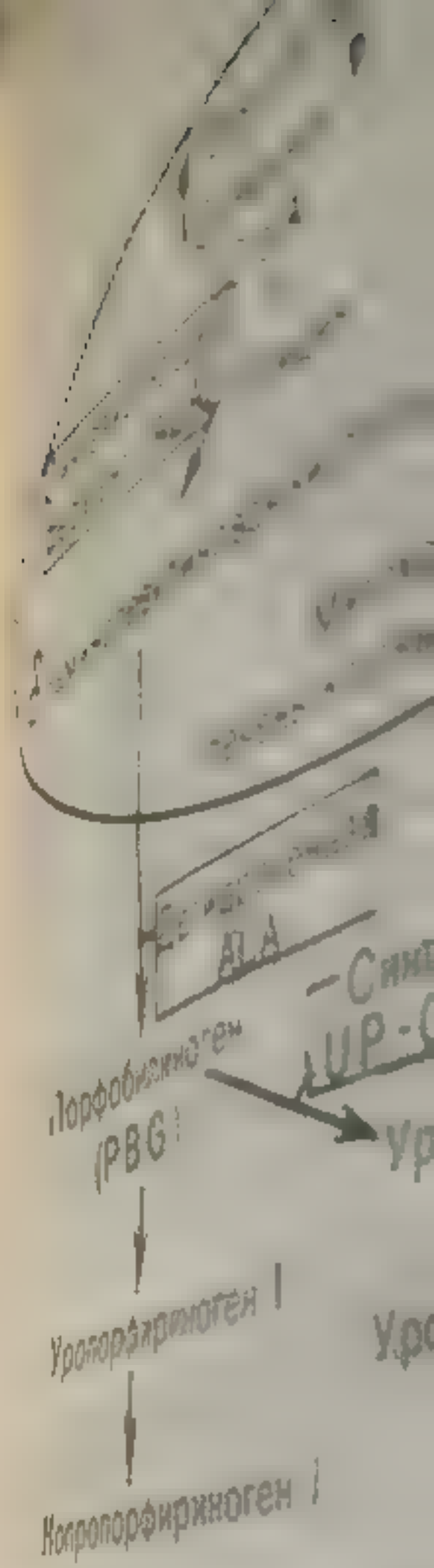


Рис. 7.8. Путь синтеза гема.

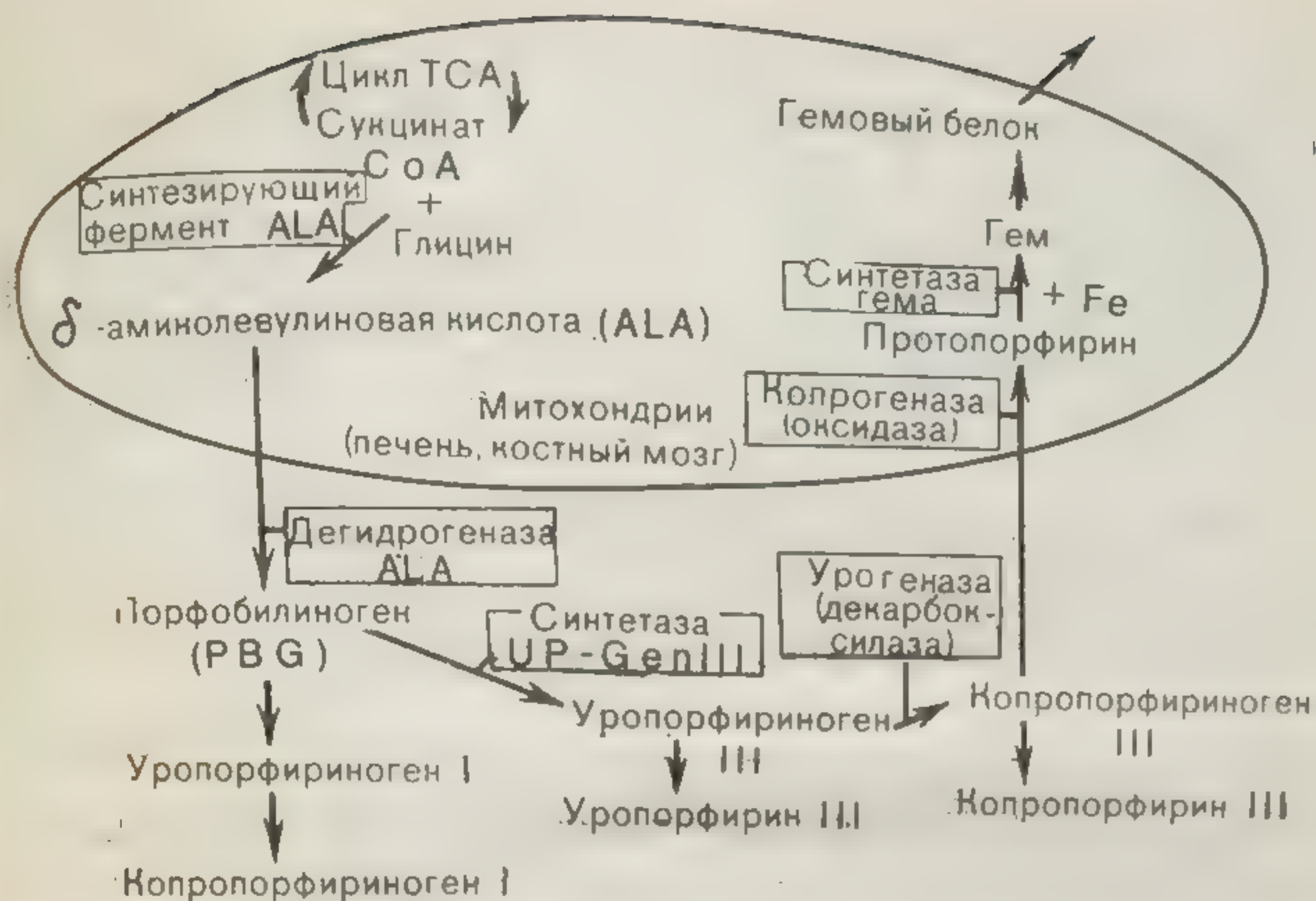


Рис. 7.8. Путь синтеза гема.

находящейся на первой ступени. При данном заболевании активация этого синтеза ALA исключительно ускорена. Предполагалось, что в ферментном синтезе ALA благодаря гему, являющемуся конечным продуктом, срабатывает контроль отрицательной обратной связи, в результате чего помехи в синтезе гема, ослабляя этот тормозящий эффект, вызывают ускорение во вторично синтезируемой ALA. Между тем в ферментных реакциях, начиная от синтеза ALA и вплоть до синтеза гема, не наблюдается изменений, поэтому появилась уверенность в том, что порфирия основывается на ускорении первичного синтеза ALA. Эта мысль подкрепляется соображениями о том, что данное заболевание, являясь наследственным, подвергается индукции (синтез ферментных белков) еще и в результате воздействия различных веществ, как, например, дикарбоксидигидроколицина (DDC), аллилизопропилацетамида (AIA), гексахлорциклогексана, глицеофурубина и т. д. За последние годы появились также соображения о том, не являются ли помехи в отрицательной обратной связи следствием имеющихся помех в захвате гема и гемовых белков, стоящих непосредственно в верхних от него позициях (цитохрома P 450, b5 и т. д.). Как иллюстрируется в табл. 7.6, при данном заболевании не может быть строгого единообразия нарушений, ибо оно подразделяется на две крупные группы — заболевания с основными симптомами со стороны печени и заболевания с основными симптомами

Т а б л и ц а 7.6

Классификация порфирии

Классификация	Накапливающиеся порфириновые тела	Повышенная светочувствительность кожи	Острое начало заболевания	Форма наследования
1. Эритропоэтическая порфирия				
а. Врожденная эритропоэтическая порфирия (болезнь Гюнтера)	Уро(копро)порфирин I (в эритроцитах, моче)	+++	—	Аутосомно-рецессивная
б. Эритропоэтическая протопорфирия	Протопорфирин (в эритроцитах, экскрементах)	++	—	Аутосомно-доминантная
2. Печеночная порфирия				
а. Острая перемежающаяся порфирия	ALA, PBG (в моче, печени)	—	+++	То же
б. Нетипичные формы порфирии (наследственная поздняя порфирия кожи)	ALA, PBG (в моче, печени) Протокопропорфирин (в экскрементах)	+	++	» »
в. Наследственная копропорфирия	ALA, PBG (в моче, печени), копропорфирин (в экскрементах)	+	+	» »
г. Поздняя кожная форма порфирии?	Урокопропорфирин (в печени, моче)	++	—	Нарушения в печени, токсикоз, а также предрасположение?

ми со стороны костного мозга, а также потому, что заболевание дифференцируется в зависимости от формы наследования. На основании одного только первичного увеличения описанного выше синтезирующегося ALA невозможно объяснить эту гетерогенность. Для разрешения этой проблемы необходим дальнейший прогресс в исследованиях.

а. Врожденная эритропоэтическая порфирия

Это заболевание еще называют болезнью Гюнтера (Günther). Обнаруживается симптом красной мочи, поскольку в моче увеличено главным образом содержание уропорфирина I и частично — копропорфирина I. Вскоре после рождения к заболеванию присоединяется повышенная светочувствительность и гемолитическая анемия. Нервных симптомов не наблюдается. Характерной особенностью данного заболевания является то, что, в отличие от других форм порфирии с рецессивным типом наследования, увеличивается и накапливается не III, а I форма, находящаяся на пути обычного синтеза. В действительности хотя и имеются сообщения о том, что активация синтезируемого фермента Uroporphyrinogen Decarboxylase (UROD) начиная от PBG до уропорфориногена III снижается в эритроцитах, однако остается неясным, который из них играет главную роль в ускорении синтеза ALA.

б. Эритропоэтическая протопорфирия

Протопорфирин, являющийся веществом, стоящим на предыдущей ступени гема, накапливается в плазме крови, в эритроцитах, а также в экскрементах. При протопорфирии основным клиническим симптомом является повышенная чувствительность к свету и, как правило, не наблюдается анемии. По сравнению с первой из упомянутых форм частота возникновения заболевания высокая, кожные симптомы незначительны, прогноз в целом благоприятный. Однако за последние годы получены также данные, свидетельствующие о том, что не весь увеличивающийся протопорфирин берет свое начало исключительно от эритроцитов; иногда его увеличение объясняется также зависимостью от функции печеночных клеток. Поэтому также напрашивается вопрос, не отнести ли данное заболевание скорее к группе печеночной порфирии. Форма наследования аутосомно-доминантная, и несмотря на ее совпадение

с формой наследования, характерной для печеночной порфирии, степень проявления гена значительно стерта, поэтому имеют место также и бессимптомные случаи.

в. Острая перемежающаяся порфирия

Этот вид порфирии отличается самой высокой частотой в числе других форм порфирии. Как считают, в Японии число описанных случаев заболевания уже достигло 100. Частота заболеваемости среди японцев, как утверждают, достигает 1 : 100 000. Невзирая на то, что, согласно генеалогическим обследованиям, заболевание обнаруживает аутосомно-доминантную форму, пока остается неясным, действием какого механизма мутантный ген вызывает ускорение активации ферментативного синтеза ALA. Это лишь наводит на мысль о существовании тесной взаимозависимости между влиянием медикаментов: барбитуратов, лекарственных средств пуринового ряда, сульфаниламидов, женских половых гормонов, сульфонилмочевин (толбутамид, хлорпропамид), хлорохина и др., которые в состоянии спровоцировать заболевание, — и индукцией активации синтезируемой ферментами печени ALA, которая также может послужить причиной болезни.

Клинические симптомы в период острых приступов поистине разнообразны. Прежде всего, за несколько дней и в качестве продромальных симптомов часто появляются тупые боли в области живота, тошнота, головная боль, беспокойство. При наступлении кризиса — острая боль в животе, рвота, запор; нередко при диагностировании острой боли в животе больные подвергаются лапаротомии. В качестве различных нервных и психических симптомов наблюдаются всевозможные аномалии: паралич конечностей, бульбарный паралич, паралич черепно-мозговых нервов, паралич дыхательной мускулатуры, нарушение сознания, мозжечковые и спинальные симптомы, судороги и т. д. Со стороны психики отмечаются беспокойство, раздражительность, нарушение сознания и т. п., поэтому иногда случается, что их ошибочно рассматривают как психическое заболевание.

В период временного спада все эти симптомы болезни почти не обнаруживаются, однако количество выделяемого в мочу PBG в среднем повышено до 20 мг (норма 0 ~ 1 мг), что можно использовать для дифференцированного диагноза.

Симптомам
ми симптомам
напоминает ос
рой говорилос
характерными
ются кожные
течение (экзе
пятна на коже
выделение про
ментами.

Несмотря на
минантная, вс
следственная
ции синтезиру
топорфирина
смешанная пор
кожная порфи
идентичны да
Заболевание
в Южной Афр
дения и служ
тического дрей
отмечается кра

д.
Симптомы в
гичны симптом
разницей, что
области живота
PBG в моче и
но повышено,
экскрементах
порфирина III
обычное время
И хотя насл
ным, явные слу
ди женщин.

г. Нетипичные формы порфирии (ремиттирующая порфирия, протопорфирия, наследственная поздняя кожная порфирия, наследственная СРТ, смешанная порфирия)

Симптомами внезапной острой боли в животе, нервными симптомами и своей этиологией эта форма порфирии напоминает острую перемежающуюся порфирию, о которой говорилось в предыдущем параграфе. Вместе с тем характерными особенностями данного заболевания являются кожные симптомы, зачастую имеющие хроническое течение (экзема на обнаженных участках кожи, красные пятна на коже, образование пузырьков, эрозии и т. д.) и выделение протопорфирина и копропорфирина с экскрементами.

Несмотря на то что форма наследования аутосомно-доминантная, все еще остается неясным, какая именно наследственная мутация влечет за собой ускорение активации синтезирующегося фермента ALA и накопление протопорфирина и копропорфирина. Предполагается, что смешанная порфирия (Watson) и наследственная поздняя кожная порфирия (Waldenstrom) по существу, очевидно, идентичны данному заболеванию.

Заболевание возникло и преимущественно встречаются в Южной Африке среди жителей голландского происхождения и служит хорошим примером произвольного генетического дрейфа, вызванного иммиграцией. В Японии отмечается крайне редко, известно не более 10 случаев.

д. Наследственная копропорфирия

Симптомы в острый период заболевания почти аналогичны симптомам двух перечисленных заболеваний, с той разницей, что довольно часто отсутствуют симптомы в области живота. В острый период заболевания содержание PBG в моче и копропорфирина в экскрементах значительно повышено, причем в периоды временного облегчения в экскрементах обнаруживается высокое содержание копропорфирина III. И наоборот, реакция на протопорфирин в обычное время отрицательная.

И хотя наследование считается аутосомно-доминантным, явные случаи заболевания выявлены в основном среди женщин.

7.3. АНОМАЛИИ БИЛИРУБИНОВОГО ОБМЕНА

Гем, входящий в состав прежде всего гемоглобина, миоглобина, цитохрома, каталазы и пр., после /разделения железа и глобина и т. д. при посредстве биливердина превращается в билирубин. Билирубин же, соединяясь с двуосновной глюкуроновой кислотой, в конечном счете превращается в комбинированную (прямую) форму билирубина и выделяется в желчь (рис. 7.9). Этот комбинированный билирубин не только не подвергается в кишках разрушению бактериями, но и не поддается повторному всасыванию кишечным трактом. Помимо этого, какая-то часть его выделяется через стенки кишечного тракта в виде некомбинированной формы (непрямая форма). Иногда эта часть билирубина может подвергнуться метаболизму с образованием 2-пирольного ядра (билирубин-4-пирол), однако основной путь метаболизма состоит все же в присоединении глюкуроновой кислоты.

Что же касается билирубина, то в отличие от железа и гемоглобина у него, помимо отсутствия пути повторного использования, очень велик объем метаболизма гемоглобина. Поэтому если возникает препятствие на каком-либо из участков пути его обмена, то это мгновенно приводит к гипербилирубинемии (желтухе). Врожденная гипербилирубинемия (конституциональная желтуха) делится на комбинированную и некомбинированную формы. Первая

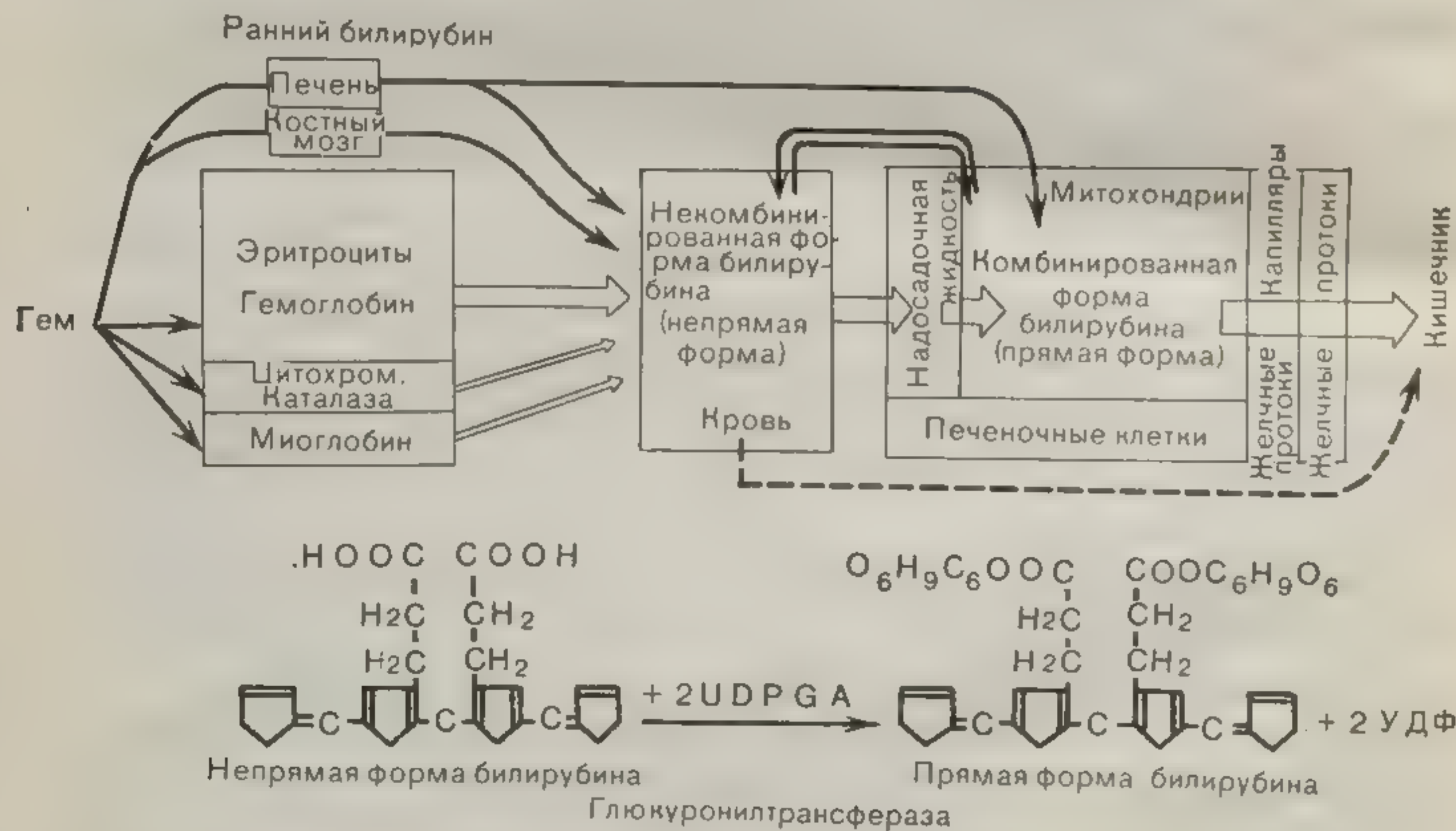


Рис. 7.9. Путь метаболизма и экскреции билирубина.

из них включает врожденную гемолитическую желтуху, первичную ретенционную гипербилирубинемию, врожденную негемолитическую некомбинированную форму гипербилирубинемии [ферментная аномалия и болезнь Жильбера (Gilbert)] и пр. Вторая же форма различается синдромом Дубина—Джонсона, гипербилирубинемией Ротора, врожденным желчным стазом в печени и т. д.

а. Первичная гипербилирубинемия, связанная с шунтом обменных реакций гемоглобина

Хотя и общеизвестно, что большая часть билирубина берет свое начало из гемовых белков, как показано на рис. 7.9, деление на фракции билирубина выявляется на весьма ранней стадии и независимо от срока жизни эритроцитов занимает 10 ~ 20 %. Предполагается, что при этом обмен гема по какой-то причине подвергается шунтированию, и это именуется билирубином ранней стадии. Общеизвестны два его вида — печеночный и миелоидный; при данном заболевании увеличивается миелоидный билирубин ранней стадии.

Различают две формы заболевания: форму, которая сопровождается врожденным сфероцитарным эритроцитозом и после нормализации долговечности эритроцитов в результате спленэктомии дает увеличение непрямого билирубина; и форму, которая сопровождается спонтанной желтухой из-за билирубина ранней стадии.

Что касается этиологии заболевания, то пока еще не совсем понятно, каким образом в костном мозге происходит шунтирование и переход гема в билирубин. Либо происходит распад на ранней стадии образования эритроблас-тов; либо это нарушения в синтезе гемоглобина. Несмотря на то что имеются примеры сосредоточения заболевания по семейной линии, форма наследования пока остается неясной.

б. Синдром Криглера—Найяра

У новорожденных на ранней стадии возникает желтуха. Это в основном происходит из-за увеличения содержания непрямого билирубина, что влечет за собой многие нарушения в центральной нервной системе (ядерная желтуха). Нарушений функций печени, несоответствия групп крови и гемолиза не наблюдается. Данное заболевание осно-

выдается на дефиците глюкуронилтрансферазы в митохондриях печеночных клеток и бывает вызвано недостаточностью формирования прямого билирубина (рис. 7.9).

Форма наследования принимает аутосомно-рецессивный характер, причем, как утверждают, у гетерозиготных носителей активность глюкуронилтрансферазы значительно понижена (не полностью рецессивная форма). За последние годы появились описания хронической формы не прямой гипербилирубинемии, которая немного отличается по своему существу от синдрома Криглера—Найяра в узком смысле и при которой нервные симптомы, вызванные ядерной желтухой, незначительны. Эта форма дает хорошую реакцию на ферментную индукцию фенобарбиталом. Очевидно, последнее не обусловлено недостатком глюкуронилтрансферазы, но поскольку отмечается частичное снижение активации, то это свидетельствует об аутосомно-доминантном наследовании.

Что касается первой из упомянутых форм заболевания, то, преследуя цель хотя бы в незначительной мере понизить токсичность непрямого билирубина окислением, можно добиться некоторых результатов, если облучать больного ребенка ультрафиолетовыми или солнечными лучами.

в. Болезнь Жильбера

При этом заболевании без каких-либо видимых причин обнаруживается легкая степень желтухи. В большинстве случаев общее содержание билирубина не достигает 5 мг/дл, в то время как содержание непрямого билирубина увеличено. Что касается прямого билирубина, то почти во всех случаях он не превышает 1 мг/дл. Функция печени большей частью нормальная, поэтому не обнаруживается аномалий в BSP, ICG, как при синдроме Дубина—Джонсона.

Что касается этиологии заболевания, то наблюдается частичное понижение активации глюкуронилтрансферазы. Эта форма заболевания, как уже отмечалось в предыдущем разделе, проявляет доминантную форму наследования, и хотя ее принято воспринимать как подвид синдрома Криглера—Найяра, все же предпочтительно рассматривать синдром Криглера—Найяра и болезнь Жильбера отдельно. В том случае, когда отсутствуют аномалии в активации фермента, по-видимому, можно спокойно пред-

положить болезнь Жильбера и не будет путаницы. Предполагают, что при данном заболевании по какой-то причине возникают препятствия на этапе поступления в печеночные клетки из крови после прохождения печеночных клеточных мембран. В качестве лечебного средства эффективен фенobarбитал.

Что касается наследования, то утверждают, что заболевание имеет аутосомно-доминантную форму.

г. Синдром Дубина—Джонсона

Данное заболевание, отличаясь от конституциональной желтухи, представляет собой форму, при которой увеличивается прямой билирубин (комбинированная форма), причем отмечается то подъем, то спад в тяжести заболевания. Кроме того, иногда желтуха влечет за собой гепатомегалию, утомляемость, боли в животе. При лапаротомии обнаруживается черная печень, а на гистологических препаратах внутри печеночных клеток видны осадки коричневых гранул. Хотя BSP обнаруживает легкую или среднюю степень застоя, характерной особенностью данного заболевания является то, что, спустя 60 ~ 120 мин после введения BSP его концентрация в крови повышается вновь. В частности, эти гранулы не являются характерным признаком данного заболевания. Вместе с тем, если больные, страдающие синдромом Дубина—Джонсона, заболевают гепатитом, то они гибнут. Что же касается механизма возникновения заболевания, то предполагают, что возникают препятствия на пути транспорта из печеночных клеток в желчь.

По поводу формы наследования все еще не сделано никаких выводов, но, если полагаться на исследования последних лет, то аутосомно-рецессивная форма наследования наиболее вероятна.

д. Гипербилирубинемия Ротора (синдром Ротора)

Основным симптомом этого заболевания является желтуха, вызванная увеличением прямого билирубина. Другие клинические симптомы немногочисленны, лишь изредка отмечается чувство утомления и боли в животе. Характерным моментом, отличающим данное заболевание от синдрома Дубина—Джонсона, является то, что коэффициент клиренса BSP, ICG в плазме крови резко снижается,

а коэффициент, показывающий длительность их пребывания в крови, бывает или средним, или высоким. Внутри печеночных клеток иногда обнаруживаются пигментные гранулы, что затрудняет дифференцирование с предыдущим заболеванием. В то же время при данном заболевании показатель BSP не дает повторного подъема, тогда как при синдроме Дубина—Джонсона это является характерной чертой. Далее, что касается механизма возникновения заболевания, то предполагается наличие дефекта путей обмена между кровью и печеночными клетками, а не между печеночными клетками и желчными протоками. Однако, если допустить такую мысль, то непонятно, почему непрямая форма билирубина не увеличивается, а прямая — увеличивается. Следует полагать, что форма наследования — аутосомно-рецессивная.

7.4. БЕЛКОВЫЕ АНОМАЛИИ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Белки плазмы крови включают многочисленные компоненты белков, насчитывающие свыше 50 разновидностей. В соответствии с дефицитом этих белков описаны заболевания, связанные с той или иной недостаточностью. Здесь будут рассматриваться только самые главные из числа компонентов этих белков; о гормонах, ферментах и факторе свертывания повествуется в других разделах, к которым может обратиться читатель. Кроме того, с самого начала исключаются все заболевания, связанные с вторичным дефицитом, который может быть вызван различными заболеваниями как второстепенный.

а. Анальбуминемия

Это врожденное заболевание, которое характеризуется полным отсутствием альбумина и имеет аутосомно-рецессивную форму наследования. Хотя в настоящее время во всем мире описано не более 6 случаев заболевания, интересно, что во всех этих 6 примерах не обнаруживаются явных симптомов. Имеются лишь такие симптомы, как ускорение оседания эритроцитов, гипотония, отеки, гиперхолестеринемия, отклонения в коллоидной реакции. Функция почек независимо от понижения осмотического давления коллоидов, объясняемого отсутствием альбумина, хорошо компенсируется. При данном заболевании не

отмечается ускорения катаболизма альбумина и причиной болезни служит снижение активности его синтеза.

б. Заболевание, связанное с дефицитом α_1 -антитрипсина

α_1 -антитрипсин, занимая около половины фракций α_1 -глобулина, подавляет активность трипсина и в первую очередь фермента, расщепляющего белки, полученные из бактерий и эритроцитов и эластазы. Тормозящая способность по отношению к трипсину для α_1 -фракции сыворотки крови человека (TIC) составляет 90%, а для фракции α_2 — 10%. TIC у аномальных гомозигот, страдающих дефицитом α_1 -антитрипсина, явно снижена, а у гетерозигот обнаруживается среднее значение нормального показателя (трехпиковое распределение). Хотя, как это выяснилось, легочная эмфизема возникает у большей части гомозигот (до 40 лет), описаны также случаи эмфиземы легких и у гетерозигот. Следовательно, форма наследования является или не полностью рецессивной, или не полностью доминантной (нельзя назвать ни рецессивной, ни доминантной). Как утверждают в последнее время, к данному заболеванию, помимо хронических легочных заболеваний, относится также и юношеский цирроз печени.

в. Заболевание, связанное с дефицитом церулоплазмина (болезнь Вильсона)

Церулоплазмин относится к фракции α_2 -глобулина и представляет собой белок синего цвета, содержащий в одной молекуле 8 атомов меди. Если медь, которая абсорбировалась из кишок, успешно образует слабое соединение с альбумином, она в печени соединится с апоцерулоплазмином и превратится в церулоплазмин. Как утверждают, можно предполагать, что при заболевании, связанном с дефицитом церулоплазмина, поскольку этот апоцерулоплазмин присутствует в печени, вполне вероятно также дефект связывания с медью.

При данном заболевании у всех больных до 30 лет возникает гепатолентикулярная дегенерация [болезнь Вильсона (Wilson)]. Однако, обнаружив, что при болезни Вильсона у большей части пациентов нет отклонений в показателе церулоплазмина, а между содержанием церулоплазмина и клиническими симптомами отсутствует

параллельная взаимозависимость, стали думать, что к возникновению болезни Вильсона относятся также и другие факторы, не считая церулоплазмина: такие, как, например, механизм захвата меди печенью или желчью.

Форма наследования аутосомно-рецессивная, причем гетерозиготные носители клинически абсолютно нормальны; количество церулоплазмина у них занижено лишь незначительно или в течение короткого периода времени.

г. Атрансферринемия (врожденная)

Трансферрин, представляя собой гликопротеин фракции β_1 -глобулина, соединяет в каждой молекуле 2 атома трехвалентного железа. Общая соединительная способность железа (ТIBC) в сыворотке крови человека зависит от содержания трансферрина, причем примерно $\frac{1}{3}$ часть трансферрина соединяется с железом, а оставшиеся $\frac{2}{3}$ составляют резерв (железосвязывающая способность).

Хотя до наших дней описанных примеров заболевания во всем мире насчитывается не более 4 случаев (в том числе в Японии 2 случая, в Кюсю), вместе с тем это представляет глубокий интерес, поскольку они подтверждают, что трансферрин играет роль в метаболизме железа. В числе симптомов на сравнительно ранней стадии следует назвать гипохромную анемию и гепатомегалию и спленомегалию. Цветной показатель низок — $0,58 \sim 0,77$ и не поддается лечению ни препаратами железа, ни витаминами.

У аномальных гомозигот содержание трансферрина при данном заболевании не достигает 15 мг/дл; гетерозиготы же, хотя клинически и здоровы, имеют пониженное по сравнению со здоровыми гомозиготами содержание трансферрина — до $50 \sim 85\%$ (240 ~ 300 мг/дл). Короче, предполагается, что форма наследования аутосомно-неполнорецессивная. Если заболевание обнаруживается на ранней стадии младенчества, до наступления печеночных нарушений, развитие детей может продолжаться при условии восполнения трансферрина или переливания плазмы крови.

д. Врожденный синдром дефицита антител (агаммаглобулинемия)

Благодаря действию антител иммунный механизм является самым важным и мощным механизмом защиты организма, который сам вторгается в борьбу против веществ

внешнего мира. При частичном врожденном нарушении этого механизма, вызывающем неполноценное формирование антител, организм чрезмерно реагирует на различные инфекционные заболевания и на вакцинацию (короткая оспа) и это иногда приводит к гибели. Кроме того, момент одновременного возникновения аутоиммунного заболевания и злокачественной лимфомы, взаимосвязанный с патологией развития этих заболеваний, содержит в себе глубокий смысл.

В наши дни, когда прояснились многие синдромы неполноценности антител, начали различать диффузную форму заболевания, при которой полностью отсутствуют иммуноглобулины (Ig), и избирательную форму дисгаммаглобулинемии, при которой отсутствует один из классов иммуноглобулинов IgG, IgA, IgM и т. д. Здесь мы остановимся на иллюстрации наиболее важных моментов.

е. Аномалии комплемента

Комплемент, подвергаясь в результате реакции «антиген—антитело» активации и последовательно вступая в реакцию с каждым из компонентов, от C_1 до C_9 , начинает проявлять взаимодействие с бактериями и фагоцитами, гемолизом, аллергией и т. д. Компоненты комплемента относятся к фракции β -глобулина (C_{1q} — к гамма-глобулину), причем при аутоиммунных заболеваниях, при циррозе печени и других заболеваниях они уменьшаются. С другой стороны, имеют место случаи, когда подобная этиология отсутствует, но имеется врожденный дефицит или снижение количества комплемента.

1) Заболевание, связанное с дефицитом C_{1r} .

Понижение C_{1q} наблюдается при агаммаглобулинемии швейцарского типа, а также при других формах агаммаглобулинемии, при которых активность C_{1s} и C_{1r} нормальна. Хотя за последние годы было выявлено заболевание, связанное с дефицитом C_{1r} , однако и содержание C_{1s} было понижено до 50%. И несмотря на то, что подобный дефицит обнаруживается при хроническом нефрите, все еще остается неясным, является ли дефицит этого C_{1r} врожденным недостатком или вторичным.

Классификация врожденных синдромов дефицита антител

Таблица 7.7

Виды заболеваний	Аномалии в тканях или в клетках	Дефицит Ig	Основные клинические симптомы	Форма наследования
Агаммаглобулинемия Болезнь Bruton	Плазматические клетки	Значительное понижение	Часто возникают бактериальные заражения, аутоиммунные заболевания	Рецессивное наследование, сцепленное с X-хромосомой
Первичная приобретенная агаммаглобулинемия	Атрофия лимфатических фолликулов, уменьшение плазматических клеток	Понижение IgG (500 мг/дл)	Симптомы аналогичны вышеуказанным, впервые возникает после наступления половой зрелости	Иногда встречается семейная; форма наследования остается невыясненной
Избирательная агаммаглобулинемия (форма Розена) (Rosen I)	Неполноценное формирование лимфатических фолликулов	IgG IgA	Часто возникают бактериальные заражения, аутоиммунные заболевания	Рецессивное наследование, сцепленное с X-хромосомой
Rosen II		IgA IgM	Одинаковые с вышеуказанными	?
Двигательная атаксия, расширение периферических кровеносных сосудов	Уменьшение лимфоцитов	IgA	Мозжечковая атаксия, расширение периферических кровеносных сосудов	Аутосомно-рецессивное наследование

судов (синдром Louis — Bar)

Синдром Wiskott—Aldrich

Швейцарская форма агаммаглобулинемии

Неполноценность вилочковой железы (форма Gitlin)

Неполноценность вилочковой железы (форма Nezelof)

Болезнь дефицита вилочковой железы

Повышенная чувствительность к антигенам. Снижение клеточного иммунитета

Гипоплазия вилочковой железы, дефицит плазматических клеток, уменьшение лимфоцитов

Уменьшение количества лимфоцитарных клеток в вилочковой железе

Неполноценность клеточного иммунитета

То же

Общее понижение. Снижение IgM. Увеличение IgA

Значительное снижение

Понижено, но непостоянно

Норма

Норма

судов (кожа, конъюнктивы глазного яблока), инфекция, злокачественная лимфаденома

Инфекционные заболевания, аутоиммунные заболевания, злокачественные лимфаденомы

Особенно неустойчивы к инфекции, вызываемой палочками, вирусами, пневмоцистозу. Гибнут в раннем возрасте

Заражение верхних дыхательных путей, вирус коревой оспы

Заражение палочковидными бактериями, вирусами, пневмоцистами

То же. Гибнут в грудном возрасте

Рецессивное наследование X-хромосомы

Аутосомно-рецессивная форма наследования

1) Наследование, сцепленное с X-хромосомой.
2) Аутосомно-рецессивная форма
Аутосомно-рецессивная форма наследования

Не выяснена

Классификация врожденных синдромов дефицита антител

Виды заболеваний	Аномалии в тканях или в клетках	Дефицит Ig	Основные клинические симптомы	Форма наследования
Агаммаглобулинемия Болезнь Bruton	Плазматические клетки	Значительное понижение	Часто возникают бактериальные заражения, аутоиммунные заболевания	Рецессивное наследование, сцепленное с X-хромосомой
Первичная приобретенная агаммаглобулинемия	Атрофия лимфатических фолликулов, уменьшение плазматических клеток	Понижение IgG (500 мг/дл)	Симптомы аналогичны вышеуказанным, впервые возникает после наступления половой зрелости	Иногда встречается семейная; форма наследования остается невыясненной
Избирательная агаммаглобулинемия (форма Розена) (Rosen I)	Неполноценное формирование лимфатических фолликулов	IgG IgA	Часто возникают бактериальные заражения, аутоиммунные заболевания	Рецессивное наследование, сцепленное с X-хромосомой
Rosen II		IgA IgM	Одинаковые с вышеуказанными	?
Двигательная атаксия, расширение периферических кровеносных со-	Уменьшение лимфоцитов	IgA	Мозжечковая атаксия, расширение периферических кровеносных со-	Аутосомно-рецессивное наследование

судов (синдром Louis — Bar)			судов (кожа, конъюнк- тива глазного яблока), инфекция, злокаче- ственная лимфаденома	
Синдром Wiskott—Ald- rich	Повышенная чувстви- тельность к антиге- нам. Снижение кле- точного иммунитета	Общее пони- жение. Сниже- ние IgM. Увеличение IgA	Инфекционные заболе- вания, аутоиммунные заболевания, злокаче- ственные лимфаденомы	Рецессивное наследо- вание X-хромосомы
Швейцарская форма агаммаглобулинемии	Гипоплазия вилочко- вой железы, дефицит плазматических кле- ток, уменьшение лим- фоцитов	Значительное снижение	Особенно неустойчивы к инфекции, вызывае- мой палочками, вируса- ми, пневмоцистозу. Гиб- нут в раннем возрасте	Аутосомно-рецессив- ная форма наследо- вания
Неполноценность вилоч- кой железы (форма Gitlin)	Уменьшение количе- ства лимфоцитарных клеток в вилочковой железе	Понижено, но непостоянно	Заражение верхних ды- хательных путей, вирус коровьей оспы	1) Наследование, сцепленное с X-хро- мосомой. 2) Аутосомно-рецес- сивная форма
Неполноценность вилоч- кой железы (форма Nezelof)	Неполноценность кле- точного иммунитета	Норма	Заражение палочковид- ными бактериями, виру- сами, пневмоцистами	Аутосомно-рецессив- ная форма наследова- ния
Болезнь дефицита вилочковой железы	То же	Норма	То же. Гибнут в грудном возрасте	Не выяснена

2) Заболевание, связанное с дефицитом C_2

Хотя у лиц, страдающих дефицитом C_2 , показатель концентрации комплемента в сыворотке крови равен нулю, явные клинические симптомы не проявляются. Дефицит возникает в результате аутосомно-рецессивной формы наследования, причем у аномальных гомозигот синтез абсолютно отсутствует, гетерозиготы обнаруживают активность, которая равна 50% нормальной. Это так называемая не полностью рецессивная форма.

3) Заболевание, связанное с дефицитом C_3

Особых клинических симптомов не обнаруживается. Хотя строятся предположения об аналогичной варианту C_2 форме наследования, это пока еще не подтверждено.

4) Заболевание, связанное с дефицитом C_4

Во всех трех случаях заболевания, выявленных в Японии, определяется недостаточность активности C_4 , однако присутствует белок C_4 . Предполагается, что имеет место нарушение механизма активации белка C_4 (β IE-глобулин). Форма наследования ясно не определена.

5) Заболевание, связанное с дефицитом C_1 -инактиватора (наследственный ангионевротический отек, HANE)

Наследственный ангионевротический отек представляет собой заболевание, для которого характерны приступы отеков кожи и слизистых оболочек, острое кишечное заболевание, сопровождающееся приступами острых болей в животе, а также нарушением дыхания в результате отека голосовой щели. В течение последних лет выяснилось, что причиной данного заболевания является дефицит C_1 -инактиватора. Вместе с тем все еще остается до конца непонятным, какой механизм вызывает избыточную активность C_{1s} -эстеразы, порождающую отек. Заболевание имеет аутосомно-доминантную форму наследования.

Decker J. I.
Arth. &
French J.
acid lev
demiol.
Hall A. P.
long-ter
Kelley W.
deficien
27(4): 1
Kelley W.
rase de
Lesch M. a
and cer
570.
Migeon B.
HGPR
Amer. J
Миканаги
5(9): 1
Mikkelsen
values
Amer.
Нанакава
гии. Р
Stanbury
1972 T
McGra
Мияти Т
Ямамура
Ямамура
мена
Токио

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Decker J. L. et al.* 1962 Hyperuricemia in a male Filipino population. *Arth. & Rheum.* 5(2): 144—155.
- French J. G. et al.* 1967 A study of familial aggregation of serum uric acid levels in the population of Tecumseh Michigan. *Amer. J. Epidemiol.* 86(1): 214—224.
- Hall A. P. et al.* 1966 Epidemiology of gout and hyperuricemia — a long-term population study. *Amer. J. Med.* 42 (1): 27—37.
- Kelley W. N.* 1968 Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase deficiency in the Lesch Nyhan syndrome and gout. *Fed. Proc.* 27(4): 1047—1052.
- Kelley W. N. et al.* 1969 Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase deficiency in gout. *Ann. Int. Med.* 70(1): 155—206.
- Lesch M. a. W. L. Nyhan* 1964 A familial disorder of uric metabolism and central nervous system function. *Amer. J. Med.* 36(4): 561—570.
- Migeon B. R.* 1971 Studies of skin fibroblasts from 10 families with HGPRT deficiency, with reference to X chromosomal inactivation. *Amer. J. Human Genet.* 23(2): 199—210.
- Миканаги Киёнобу 1969 Подагра и наследственность. *Ринсё кагаку* 5(9): 1146—1149.
- Mikkelsen W. M. et al.* 1965 The distribution of serum uric acid values in a population unselected as to gout or hyperuricemia. *Amer. J. Med.* 39(2): 224—251.
- Нанакава Кандзи 1971 Гиперурикемия с точки зрения иммунологии. *Ринсё но аюми.* 47 1—16.
- Stanbury J. B., J. B. Wyngarden a. D. S. Fredrickson* (eds.) 1960, 1966, 1972 The metabolic basis of inherited disease. 1st, 2nd and 3rd, McGraw-Hill Co., New York.
- Мияти Такаоки, Мацунага Кэйко 1967 Аномальный гемоглобин. —
- Ямамура Юити 1971 Патология в биохимии. Иванами сётэн. Токио.
- Ямамура Юити и др. 1972 Справочник врожденных заболеваний обмена веществ. Дайся. Том 8. Риндзи дзюкан. 2. Накаяма сётэн, Токио.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие к серии «Современная генетика»	7
Предисловие к тому «Биохимия наследственности»	9
Глава I. Биохимические мутации у человека (обзор научных исследований и их этапов)	11
1.1. Биохимическая генетика. Ход ее развития	11
а. Развитие физиологической генетики	11
б. Исследования Garrod	12
в. Теория «один ген — один фермент»	13
г. Нуклеиновые кислоты как материальная основа наследственности	14
д. Разъяснение механизма самовоспроизведения и проявления признаков	16
е. Установление кода для записи генетической информации	18
ж. Механизм регуляции функции генов	19
1.2. Биохимическая индивидуальность человека	20
а. Нарушения в метаболизме, связанные с проявлением единичного гена	22
б. Чувствительность к лекарственным средствам	23
в. Индивидуальные различия с точки зрения показателей компонентов человеческого организма в сочетании с порогом чувствительности	27
г. Сравнительно редкие биохимические мутации, выявленные при помощи электрофореза с движущейся границей	28
д. Полиморфные белки	29
1.3. Препятствия на пути метаболизма, связанные с единичным геном	30
а. Неполноценное образование веществ	31
б. Накопление субстрата	32
в. Накопление веществ-предшественников	32
г. Увеличение продуктов метаболизма за счет обходных путей	33
1.4. Изменения активности фермента	34
а. Атипичная форма холинэстеразы	35
б. Оротовая ацидурия	37
1.5. Молекулярные болезни	38
а. Обзор молекулярных болезней	39
б. Мутации в структуре гемоглобина	41
в. Применение к человеку теории генетических информационных кодов	41
г. Структуры и функции	46

Д. Нарушение
Заключение
Список литературы
Глава II. П
ным обра
21. Полимор
22. Частота
23. Виды н
ков
24. Гаптогло
а. Фенотип
б. Подтип
в. Химичес
г. Молекул
бина
д. Физиоло
25. Способы
Географи
Заключение
Список литерату
Глава III. А
3.1. Отсутств
века
3.2. Генетика
3.3. Субъедин
а. Эксперим
б. Эксперим
на собак
в. Электроф
мочевино
г. Хроматог
и электр
д. Разделен
последую
или при
3.4. Аномальн
3.5. Точечные
3.6. Отсутстви
3.7. Мутация
3.8. Талассем
а. α -Талассе
б. β -Талассе
в. γ -Талассе
г. δ -Талассе
д. $\delta\beta$ -Талассе
3.9. Аномали
3.10. Взаимали
а. Взаимоде
генов, за
б. Взаимны
гена тала

д. Нарушение баланса в синтезе гемоглобинов	52
Заключение	55
Список литературы	56
Глава II. Полиморфные отличительные признаки (главным образом о гаптоглобине)	58
2.1. Полиморфные признаки	59
2.2. Частота полиморфизма	60
2.3. Виды и функции полиморфных биохимических признаков	64
2.4. Гаптоглобин	67
а. Фенотипы и генотипы гаптоглобина	67
б. Подтипы гаптоглобина	70
в. Химическая структура гаптоглобина	70
г. Молекулярная структура каждого из типов гаптоглобина	76
д. Физиологические функции гаптоглобина	83
2.5. Способы измерения концентраций гаптоглобина в крови	87
Географическое распределение генов гаптоглобина	92
Заключение	96
Список литературы	98
Глава III. Аномалии гемоглобина	100
3.1. Отсутствие единообразия в составе гемоглобина у человека	100
3.2. Генетика гемоглобина	107
3.3. Субъединица молекулы гемоглобина	115
а. Эксперимент по созданию гибридов	116
б. Эксперимент по гибридизации Hb M Iwate и гемоглобина собаки (Hb Can)	120
в. Электрофорез и хроматография при диссоциации Hb A мочевиной	120
г. Хроматография с использованием диссоциации РСМВ и электрофорез в крахмальном геле	122
д. Разделение (α) и (β) способом диссоциации глобина с последующим осаждением трихлоруксусной кислотой или при помощи диализа	123
3.4. Аномальные гемоглобины и гемохроматоз	130
3.5. Точечные мутации	137
3.6. Отсутствие ошибок и слияние	141
3.7. Мутация на конечной точке цепи структурного гена	143
3.8. Талассемия	145
а. α -Талассемия	148
б. β -Талассемия	153
в. γ -Талассемия	156
г. δ -Талассемия	156
д. $\delta\beta$ -Талассемия	157
3.9. Аномалии гена-переключателя	158
3.10. Взаимодействие генов, кодирующих синтез гемоглобина	161
а. Взаимодействие двух видов аномальных структурных генов, занимающих одинаковые локусы (образующих аллельные гены) — заболевания Hb S/Hb C и Hb S/Hb D	162
б. Взаимодействие патологического структурного гена и гена талассемии	163
	307

в. Взаимодействие гена талассемии и гена наследственной персистенции фетального гемоглобина	166
г. Ген Lepore (ген слияния) в сочетании с геном β -талассемии	167
Список литературы	168
Глава IV. Нарушения метаболизма углеводов и аминокислот	176
4.1. Заболевания, вызванные нарушениями углеводного обмена	176
а. Галактоземия	177
б. Фруктоземия	179
в. Недостаточность фруктозо-1,6-дифосфатазы	180
г. Лактоземия	180
д. Интолерантность к сахарозе	181
е. Врожденная интолерантность к лактозе, связанная с лактозурией	181
ж. Фруктозурия. Доброкачественная фруктозурия	181
з. Пентозурия	181
и. Сахарозурия	182
к. Почечная глюкозурия	182
л. Гликогенозы (болезни накопления гликогена)	183
м. Аномалии в обмене пировиноградной кислоты	186
н. Аномалии сахарного метаболизма, вызывающие гемолитическую анемию	188
о. Мукополисахаридоз. Гаргоилизм	189
п. Фукозидоз	192
р. Маннозидоз	192
4.2. Нарушения метаболизма аминокислот	193
а. Фенилкетонурия	194
б. Гиперфенилаланинемия. Атипичная форма фенилкетонурии	197
в. Альбинизм	198
г. Тирозиноз	199
д. Алкаптонурия	199
е. Заболевания, связанные с нарушением орнитинового цикла	200
ж. Гиперлизинемия	203
з. Нарушения метаболизма аминокислот, содержащих серу	203
и. Нарушения метаболизма иминокислот	208
к. Нарушения метаболизма соединений имидазола	209
л. Нарушения метаболизма аминокислот с боковой цепью	212
м. Прочие виды заболеваний	213
4.3. Аномалии транспорта в почечных канальцах	215
Список литературы	216
Глава V. Врожденные нарушения обмена липидов	219
5.1. Сфинголипидоз	219
а. Глюкоцереброзидоз (болезнь Гоше)	223
б. Галактоцереброзидоз. Сульфацидоз	227
в. Ганглиозидоз	228
г. Церамидолиготексозидоз (болезнь Фабри)	232
д. Церамидлактозидоз	233

32. Фенилкетонурия
33. Нарушение обмена аминокислот
34. Болезнь Гоше
35. Нарушение обмена углеводов
36. Нарушение обмена липидов
37. Болезнь Вильсона
38. Нарушение обмена аминокислот
39. Нарушение обмена углеводов
40. Заболевания обмена аминокислот
41. Заболевания обмена углеводов
42. Заболевания обмена липидов
43. Болезнь Гоше
44. Болезнь Вильсона
45. Болезнь Фабри
46. Болезнь Ханрица
47. Болезнь Нанкина
48. Болезнь Шенкера
49. Болезнь Феттера
50. Болезнь Келли-Сингера
51. Болезнь Фабри
52. Болезнь Ханрица
53. Болезнь Нанкина
54. Болезнь Шенкера
55. Болезнь Феттера
56. Болезнь Келли-Сингера
57. Болезнь Фабри
58. Болезнь Ханрица
59. Болезнь Нанкина
60. Болезнь Шенкера
61. Болезнь Феттера
62. Болезнь Келли-Сингера
63. Болезнь Фабри
64. Болезнь Ханрица
65. Болезнь Нанкина
66. Болезнь Шенкера
67. Болезнь Феттера
68. Болезнь Келли-Сингера
69. Болезнь Фабри
70. Болезнь Ханрица
71. Болезнь Нанкина
72. Болезнь Шенкера
73. Болезнь Феттера
74. Болезнь Келли-Сингера
75. Болезнь Фабри
76. Болезнь Ханрица
77. Болезнь Нанкина
78. Болезнь Шенкера
79. Болезнь Феттера
80. Болезнь Келли-Сингера
81. Болезнь Фабри
82. Болезнь Ханрица
83. Болезнь Нанкина
84. Болезнь Шенкера
85. Болезнь Феттера
86. Болезнь Келли-Сингера
87. Болезнь Фабри
88. Болезнь Ханрица
89. Болезнь Нанкина
90. Болезнь Шенкера
91. Болезнь Феттера
92. Болезнь Келли-Сингера
93. Болезнь Фабри
94. Болезнь Ханрица
95. Болезнь Нанкина
96. Болезнь Шенкера
97. Болезнь Феттера
98. Болезнь Келли-Сингера
99. Болезнь Фабри
100. Болезнь Ханрица

е. Сфингомиелиноз (болезнь Ниманна—Пика)	233
5.2. Нарушение обмена жирных кислот	233
а. Болезнь накопления фитановой кислоты (heredopathia atactica polyneuritiformis, болезнь Рефсума)	233
б. Изовалериановая ацидурия	234
5.3. Нарушение обмена стеридов	235
а. Болезнь Волмана (Wolman)	235
5.4. Нарушение обмена липопротеидов	236
а. Заболевание, связанное с низким содержанием в крови α -липопротеидов (болезнь Танжера)	237
б. Не- β -липопротеинемия (акантоцитоз)	239
в. Заболевание, связанное с недостаточностью лецитин-холестеринацилтрансферазы	239
г. Болезни, связанные с высоким содержанием липопротеидов в крови (гиперлипемии)	240
Список литературы	242

Глава VI. Сахарный диабет 243

6.1. Определение сахарного диабета и его характерные особенности	243
а. Что представляет собой сахарный диабет?	243
б. Эпидемиология сахарного диабета и классификация	245
6.2. Сахарный диабет и наследственность	250
а. Наследственный характер сахарного диабета	250
б. Наследственные формы сахарного диабета	251
в. Распределение концентраций сахара в крови	253
6.3. Генетика количественных отличительных признаков	254
а. Биохимические признаки непрерывной изменчивости	254
б. Полимерия. Полиген	256
в. Коэффициент наследуемости	258
г. Наследование предрасположения к заболеваниям — теория порога заболевания	260
6.4. Ген сахарного диабета и эволюция человека	262
Список литературы	262

Глава VII. Врожденные аномалии обмена нуклеиновых и других кислот 264

7.1. Аномалии метаболизма нуклеиновых кислот	264
а. Синтез пурипнуклеотидов	265
б. Взаимное превращение и катаболизм пурипнуклеотидов	266
в. Восстановительный путь обмена пуриновых оснований и синдром Lesch — Nyhan	268
г. Гиперурикемия и подагра	272
д. Наследственность первичной гиперурикемии	279
е. Ксантинурия	284
ж. Ацидемия как результат повышенного содержания фолиевой кислоты	285
з. Ацидурия, вызванная повышенным содержанием оротовой кислоты	287
7.2. Аномалии синтеза порфиринов	288
а. Врожденная эритропоэтическая порфирия	291
б. Эритропоэтическая протопорфирия	291
в. Острая перемежающаяся порфирия	292
	309

г. Нетипичные формы порфирии (ремиттирующая порфирия, протопорфирия, наследственная поздняя кожная порфирия, наследственная СРТ, смешанная порфирия)	293
д. Наследственная копропорфирия	293
7.3. Аномалии билирубинового обмена	294
а. Первичная гипербилирубинемия, связанная с шунтом обменных реакций гемоглобина	294
б. Синдром Криглера — Найяра	295
в. Болезнь Жильбера	296
г. Синдром Дубина — Джонсона	297
д. Гипербилирубинемия Ротора (синдром Ротора)	297
7.4. Белковые аномалии в плазме крови	298
а. Анальбуминемия	298
б. Заболевание, связанное с дефицитом α_1 -антитрипсина	299
в. Заболевание, связанное с дефицитом церулоплазмينا (болезнь Вильсона)	299
г. Атрансферринемия (врожденная)	300
д. Врожденный синдром дефицита антител (агаммаглобулинемия)	300
е. Аномалии комплемента	301
Список литературы	305

Под ред

Издател

Типогра

Токио, С
Почтовый
Телефон
Номер с
Объедин
естестве

© 1974
Переп

293
293
294
294
295
296
297
297
298
298
299

СОВРЕМЕННАЯ ГЕНЕТИКА 6
БИОХИМИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Первое издание 15 января 1974 г.
Второе издание 20 января 1976 г.

300
300
301
305

Печать, подтверждающая
редакционную проверку

Под редакцией: ООСИМА ТЁДЗО
ИНОУЭ ЭЙДЗИ
ЮЛСА АКИРА
БАТАНАБЭ ИТАРУ

Издатель: АСАКУРА КОДЗО
Токио, Синдзюкуку, Синкогава мати
2—10

Типограф: ЭНОМОТО КИИТИРО
Токио, Дайтоку, Асакусабаси 5—1—35

И з д а т е л ь с т в о
АСАКУРА СЁТЭН КАБУСИКИ КАЙСЯ

Токио, Синдзюкуку, Синкогава мати 2—10
Почтовый индекс 162
Телефон: Токио (260) 0141 (доб.)
Номер счета для почтовых перечислений: Токио 8673
Объединенный комитет по делам печати раздела
естественных наук

© 1974

Нитто сико. Ватанабэ сэйхон

Перепечатывание и репродукция без разрешения
запрещаются

3345—161306—0032

ИБ № 1501

*Янагасэ Тосиюки, Цуда Кадзунори,
Сибата Сусуму, Арима Масатака,
Ямагава Тамио, Ямагути Масая*

БИОХИМИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Редактор Э. Г. Ларский

Технический редактор З. А. Романова

Корректор Т. В. Полухина

Художественный редактор О. С. Шанецкий

Переплет художника В. В. Ермилова

Сдано в набор 26.06.79. Подписано к печати 03.10.79. Формат бумаги $84 \times 108^{1/32}$. Бум. тип. № 1. Обыкновенная гарн. Печать высокая. 16,38 усл. печ. л., 16,63 уч.-изд. л. Тираж 5000 экз. Заказ 1711. Цена 1 р. 70 к.

Ордена Трудового Красного Знамени издательство «Медицина», Москва, Петроверигский пер., 6/8.

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 113105, Москва, Нагатинская, 1.

12-70

БИБЛИОТЕКА
ОБЩЕСТВЕННАЯ
ИСТОРИКО-ОТЕЧЕСТВЕННАЯ
И РЕВОЛЮЦИОННО-ДЕМОКРАТИЧЕСКАЯ